



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

**EFFECTO DE LA ADICIÓN DE AJO EN LA DIETA DE
CONEJOS SOBRE LA CALIDAD SANITARIA DE LA
CARNE**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MAESTRO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES

P R E S E N T A

HÉCTOR DANIEL ARZATE SERRANO

El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, México; Enero de 2017.

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Carne de conejo.....	3
2.2. Producción de carne de conejo.....	5
2.2.1. Indicadores productivos.....	7
2.3. Calidad de la carne de conejo.....	10
2.3.1. Características de calidad de la carne.....	10
2.3.2. pH.....	11
2.3.3. Conductividad eléctrica.....	13
2.3.4. Color.....	13
2.3.5. Capacidad de retención de agua.....	15
2.3.6. Textura.....	16
2.4. Procesamiento de la canal.....	17
2.5. Deterioro de la carne.....	17
2.5.1. Defectos de la calidad de la carne.....	18
2.5.2. Calidad microbiológica.....	21
2.6. Conservación de la carne.....	22
2.7. Sustancias antimicrobianas.....	24
2.7.1. Modo de acción de los agentes antimicrobianos.....	26
2.8. El ajo (<i>Allium sativum</i>).....	26
2.9. Composición química.....	27
2.10. Aplicaciones terapéuticas.....	28
2.10.1. Actividad Antifúngica.....	28
2.10.2. Actividad Antimicrobiana.....	29
2.10.3. Actividad antioxidante.....	30
2.11. Extracto de ajo.....	31
2.12. Biodisponibilidad del ajo.....	32
2.13. Efecto del ajo en la calidad sanitaria de la carne.....	33
III. JUSTIFICACIÓN.....	36

IV. HIPÓTESIS.....	37
V. OBJETIVOS.....	38
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
6.1. Experimento 1.....	39
6.2. Experimento 2.....	41
VII. RESULTADOS.....	44
7.1. Artículo 1. <i>In vitro</i> gas effect of the garlic extract addition on rabbit diets.....	45
7.2. Artículo 2. Efecto de la adición de extracto de ajo en la dieta de conejos sobre indicadores productivos, calidad física y microbiológica de la carne	65
VIII. CONCLUSIONES.....	82
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medición de pH en carne fresca.....	12
Figura 2. Patrón de muestreo de color utilizado en el cálculo de CIELab.....	14

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Comparación nutrimental de diferentes carnes de abasto con respecto a la carne de conejo.....	4
Cuadro 2. Contenido de grasa intramuscular en canales de conejo a diferentes pesos.....	4
Cuadro 3. Número de vientres por Estado en México.....	7
Cuadro 4. Efecto de la alicina sobre diversos hongos patógenos.....	29
Cuadro 5. Sensibilidad de diversas especies bacterianas a alicina.....	30
Cuadro 6. Preparados de ajo más utilizados y sus características.....	32

RESUMEN

El deterioro microbiológico de la carne de conejo depende de la especie de microorganismos que la colonizan, del método de procesamiento y las condiciones de almacenaje. Cuando la carne se mantiene a temperaturas entre 3-4°C, la carne tiene una vida de anaquel entre 6 y 8 días. El ajo es un antimicrobiano natural, debido a sus compuestos sulfurados que se absorben y metabolizan otorgándole una actividad antimicrobiana. El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad sanitaria en carne de conejo en cuya dieta se adicionó extracto acuoso de ajo (EAA) para aumentar la vida de anaquel por al menos dos días. El diseño experimental fue completamente aleatorio realizando análisis de varianza y prueba de Tukey ($P \leq 0,05$). Los tratamientos fueron previamente determinados en un estudio *in vitro* donde se midió la cinética de producción de gas y la fermentación cecal con la adición de diferentes concentraciones de extracto de ajo. Para el estudio *in vivo* se utilizaron los siguientes tratamientos: 8.4 mL de agua por jaula grupo testigo (GT); 4.2 mL de EAA con 4.2 mL de agua para el tratamiento uno (T1) y 8.4 mL de EAA para el tratamiento dos (T2), asperjado cada tercer día en el comedero. En este estudio se usaron 84 conejos (PV 1.1 ± 0.4 kg) Nueva Zelanda/Chinchilla restringidos de alimento a los 70 días por un periodo de 24 h para su matanza. Se cuantificaron Unidades Formadoras de Colonias de Mesófilos Aerobios (35 ± 2 °C, 48 h), Coliformes Fecales (45 ± 2 °C, 24 h) y Psicrófilos (5 ± 2 °C, 10 d), así como pH y color a los días 1, 3, 5, 7 y 9, bajo condiciones de refrigeración (4 °C) en muestras de *Longissimus dorsi*. Los tratamientos causaron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para Psicrófilos y Mesófilos Aerobios, los días en vida de anaquel afectaron el crecimiento de Psicrófilos. Todas las muestras estuvieron libres de Coliformes Fecales, el color no tuvo diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0,05$) durante la vida de anaquel.

Palabras clave: Conejo, ajo, vida de anaquel, análisis microbiológico.

ABSTRACT

Microbiological deterioration of rabbit meat depends on the species of microorganisms that colonize it, the method of processing and storage conditions. When the meat is kept at temperatures between 3-4 °C, it has a shelf life of between 6 and 8 days. Garlic is a natural antimicrobial because of its sulfur compounds which are absorbed and metabolized giving it an antimicrobial activity. The main objective for the present study was to evaluate the effect of aqueous garlic extract addition over the microbiological sanitary food quality from rabbit meat during its shelf life. The experimental design was completely randomized by performing analysis of variance and Tukey's test ($P \leq 0.05$). The treatments were previously determined in an *in vitro* study in which the kinetics of gas production and cecal fermentation were measured with the addition of different concentrations of garlic extract. Following treatments were used for the *in vivo* study: 8.4 ml of water per cage control group (GT); 4.2 ml of EAA with 4.2 ml of water for treatment one (T1) and 8.4 ml of EAA for treatment two (T2), sprayed every three days on the channel. 84 restricted rabbits (PV 1.1 ± 0.4 kg) of New Zealand/Chinchilla food were used over 70 days period of time and 24 h before the slaughter. Aerobic Mesophilic Colony Forming Units (35 ± 2 °C, 48 h), Fecal Coliforms (45 ± 2 °C, 24 h) and Psychophiles (5 ± 2 °C, 10 d), as well as pH and color were measured on days 1, 3, 5, 7 and 9 in refrigeration conditions (4 °C) from *Longissimus dorsi* samples. Significant differences ($P \leq 0.05$) were found for Psychophilus and Aerobic Mesophiles, the days in the life was affected by the Psychophiles growth. All samples were free of Fecal Coliforms and there were no statistically significant differences for color ($P \geq 0.05$) during the shelf life.

Keywords: Rabbit, garlic, shelf life, microbiological analysis.

I. INTRODUCCIÓN

La carne es un buen sustrato para la multiplicación de microorganismos tanto alterantes como patógenos, ya que contiene 70% de agua, 21% de proteína, 8% de grasa y 1% de minerales. Lo cual variará dependiendo del corte, especie animal, raza y del régimen alimentario. Aunque el músculo de un animal sano es estéril, la carne, incluso cuando se obtiene en condiciones higiénicas adecuadas, presenta una contaminación superficial de 10^2 - 10^4 unidades formadoras de colonia por cm^2 (Rodríguez, 2006). El deterioro de la carne de conejo en refrigeración, se debe a la actividad de enzimas endógenas (calpainas y catepsinas) y a la actividad de microorganismos (*Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella* y *Streptomyces*, entre otros) que contaminan la carne durante el proceso de faenado y despiece. Cuando el producto se distribuye a temperaturas de 4 °C, la carne tiene una vida de anaquel entre 6 y 8 días, tiempo suficiente para lograr la maduración de la carne manteniendo un producto de calidad y asegurando su inocuidad (Badr, 2004; Rodríguez *et al.*, 2005).

La alteración de la carne se refleja en una reducción del grado de aceptación y detrimento del valor nutrimental, que puede incluso asociarse a la producción de compuestos tóxicos. Por lo que es relevante el identificar el momento en que se inicia su alteración, de forma que se tomen acciones que permitan tener un mayor control para prolongar la vida de anaquel e inocuidad. El uso de antimicrobianos (conservadores) es común en la industria de los alimentos, han sido sintetizados químicamente, redundando en un rechazo por parte de los consumidores, por lo cual ha surgido la necesidad de buscar otras opciones. Hoy día, los agentes antimicrobianos de origen natural están sustituyendo a los tradicionalmente utilizados (Hernández, 2008).

El ajo (*Allium sativum*) es un potente antimicrobiano natural, debido a su contenido de compuestos sulfurados secundarios con una amplia gama de propiedades nutraceuticas, entre ellos, la alicina compuesto responsable de sus propiedades farmacológicas. Los ingredientes activos pueden extraerse con disolventes; por lixiviación, maceración, percolación e incluso por extracción asistida por microondas, utilizados para prolongar la vida útil de la carne y la seguridad para el consumidor (Cardinali *et al.*, 2014). Se ha demostrado que los compuestos azufrados del ajo solubles en agua son altamente bioactivos (López *et al.*, 2007) y se ha utilizado extracto de ajo, con el fin de extender la vida útil de la carne y productos cárnicos (Goulas y Kontominas, 2007).

La industria cárnica emplea diversos métodos para retrasar los cambios alterativos y prolongar el periodo de aceptabilidad. El tiempo de almacenamiento durante el cual se mantiene el óptimo de aceptabilidad, depende del método de conservación utilizado y de las características del producto con que se esté tratando. Aunque existen reportes de la utilización de extracto de ajo en carnes de diferentes especies, no se ha evaluado la carga microbiana adicionando el extracto en la dieta de conejos. El objetivo del presente estudio, fue adicionar distintas concentraciones de extracto acuoso de ajo en la dieta de conejos, previamente determinadas por medio de la técnica de producción de gas *in vitro*, para evaluar la calidad microbiológica así como el aumento de vida en anaquel de la carne de conejo adicionando dicho extracto.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Carne de conejo

Alrededor del mundo, los productos cárnicos han jugado un papel importante en la cultura, economía y nutrición de los consumidores. Especies no convencionales, como el conejo, están vistas como una opción para su consumo luego de preparaciones culinarias o de su sometimiento a procesos de conservación como el ahumado. Lo cual demuestra versatilidad, al ser transformada para la elaboración de productos tales como jamón y salchicha, que presenta rendimientos comparables con otras especies (Mendoza, 2008).

El conejo (*Oryctolagus cuniculus*) es una de las especies animales con mayor eficiencia biológica. Una hembra puede producir al año entre 16 y 18 veces su peso en gazapos; mientras que en el caso del vacuno, la media es de 0.64. A estas características económicas relacionadas con la producción animal hay que añadir las características de la carne en cuanto a composición química, calidad, textura y digestibilidad. Tales cualidades, son muy apreciables tanto para la población en general como para determinados grupos poblacionales con necesidades específicas (Ramírez, 2004).

En general y en comparación con otro tipo de carnes (bovino, ovino y cerdo), el contenido proteico de esta carne es mayor, su perfil de aminoácidos la sitúa entre las de mayor valor biológico, además de presentar niveles de grasa y colesterol menores (Cuadro 1). También existen diferencias en el contenido de algunas vitaminas y minerales, así como en la composición lipídica ya que presenta importantes porcentajes de ácidos grasos poliinsaturados. A pesar de todas estas ventajas, el consumo de la carne de conejo no es habitual en muchos países, probablemente debido a la tradición y a factores culturales así también por considerarse animal de compañía (Dalle, 2002).

Cuadro 1. Comparación nutrimental de diferentes carnes para abasto con respecto a la carne de conejo. Valores calculados con base en 1 kg de carne.

Tipo de carne	Energía (kcal)	Agua (mL)	Proteínas (g)	Lípidos (g)	Cenizas (g)
Cordero					
Carne Magra	2100,0	660,0	180,0	143,0	14,2
Carne Grasa	3452,0	530,0	150,0	310,0	10,0
Bovino					
Carne Magra	1950,0	669,0	200,0	120,0	10,0
Carne Grasa	3800,0	490,0	155,0	350,0	7,1
Cerdo					
Carne Magra	2610,0	610,0	170,0	210,0	8,1
Carne Grasa	3300,0	545,0	150,0	295,0	6,1
Pollo	2010,0	670,0	198,0	125,0	10,2
Conejo	1615,0	700,5	212,4	80,7	10,3

Martínez, 2004.

La composición de la carne de conejo varía con respecto a la edad, sobre todo en la proporción de grasa. En el Cuadro 2 se muestran los contenidos de grasa en cuatro diferentes partes anatómicas de carne de conejo de diferentes pesos.

Cuadro 2. Contenido de grasa intramuscular en canales de conejo a diferentes pesos.

Peso de la canal	% de Grasa		
	Bajo (1750-1850 g)	Medio (2000-2100 g)	Alto (2250-2350 g)
Pierna delantera	6,07	6,65	6,81
<i>Longissimus dorsi</i>	0,63	0,90	0,94
Pared abdominal	4,24	5,19	5,70
Pierna trasera	2,81	3,24	3,66

Pla *et al.*, 1998.

2.2. Producción de carne de conejo

La producción mundial de carnes tradicionales (bovina, aviar, porcina y ovina) se estimó en 220 millones de toneladas anuales. La producción mundial en el período 2002-2005 de carne de conejo fue de 1,1 millones de toneladas anuales. La Unión Europea, junto con la República Popular China monopolizan la producción y el consumo con aproximadamente medio millón de toneladas cada uno. Si se considera por país, China es seguida por Italia, España y Francia con el 20, 10 y 7% respectivamente, de la producción mundial. Así, más del 75% de la producción y consumo se efectúa en tan solo estos cuatro países. Es decir, la producción mundial de carne de conejo, esta geográficamente muy sesgada. Entre otros países productores importantes hay que mencionar a Egipto, República Checa y Alemania. Argentina se encuentra en el decimonoveno lugar como productor. Los países del norte de África, cubren el 90% de la demanda de ese continente en donde la cunicultura es esencialmente de tipo familiar (Jandete *et al.*, 2004).

En México, la carne de conejo mantiene una posición marginal junto con otras carnes como la ovina, caprina y de pavo. Dicha situación es principalmente influenciada por los hábitos de consumo de la población, así como por los precios de éstas (OIEDRUSBC, 2009). El Estado de México es el principal productor y consumidor de carne de conejo dentro del cual Texcoco, reporta el mayor consumo nacional 250 g/habitante/año (SAGARPA, 2012).

La producción cunícola de nuestro país, se desarrolla en la actualidad en tres sistemas:

1. Granjas de traspatio o “familiares” (80% de la población animal). El número de animales oscila entre los 10 y 20 reproductores. La producción está destinada al autoconsumo, se carece de tecnificación; los animales son explotados a nivel de piso o en jaulas hechas con material no adecuado para la especie. La alimentación se basa en productos agrícolas y desperdicios de casa (pan, tortilla,

cáscaras de fruta o verdura); no existe control sanitario alguno. No hay control productivo ni reproductivo (Blas, 1989; Mendoza, 2007).

2. Granjas semitecnificadas (15 % de la población). En este sistema se cuenta con un mínimo de 50 hembras; se lleva un manejo reproductivo, productivo y sanitario controlado. Igualmente, puede existir o no, cierta tecnificación. La alimentación se basa en alimentos concentrados. Su producción se comercializa, generalmente, por medio de intermediarios o de manera directa a clientes fijos (restaurantes, carnicerías), además se utiliza la venta al consumidor de manera directa (CNSPC, 2012; Mendoza, 2007).

3. Granjas tecnificadas (5 % de la población). En este sistema se cuenta con un número de 100 a 200 o más hembras reproductoras; instalaciones semitecnificadas o tecnificadas e incluso automatizadas. En algunas granjas se ha puesto en práctica los conocimientos y la experiencia de los grandes países productores de carne de conejo (inseminación artificial y manejo en bandas). El manejo reproductivo, productivo y sanitario es estricto. Se hace indispensable el uso de registros y la utilización de alimentos concentrados. La producción que se obtiene de este sistema se destina a restaurantes, centros comerciales o al público de manera directa (CNSPC, 2012; Mendoza, 2007).

Las explotaciones cunícolas se encuentran en mayor concentración en los estados del centro del país, esto es comprensible dado que la meseta central de México cuenta con climas que favorecen el desarrollo de esta actividad, y no requiere de instalaciones que involucren altos costos de inversión. El Estado de México es la entidad de mayor producción (25,5 %), seguido de Michoacán (16,9 %) y Distrito Federal (12,5 %) (Cuadro 3). El Estado de México, tiene un inventario de más de 6, 831 vientres y produce aproximadamente 2, 340 toneladas. En dicha entidad,

los Municipios de mayor producción son: Amecameca, Jilotepec, Atlacomulco y Texcoco; además de la zona del Valle de Toluca (SAGARPA, 2012).

Cuadro 3. Número de vientres de conejo por Estado en México.

Estado	Nº	%	Estado	Nº.	%
	hembras			hembras	
Edo. México	6831	25,5	Aguascalientes	220	0,8
Michoacán	4521	16,9	Querétaro	211	0,7
Cd. de México	3359	12,5	Yucatán	200	0,7
Puebla	3244	12,1	Sinaloa	156	0,5
Hidalgo	2182	8,1	Oaxaca	120	0,4
Guanajuato	1509	5,6	Guerrero	105	0,3
Jalisco	1487	5,5	Nuevo León	102	0,3
Tlaxcala	1000	3,7	Chihuahua	50	0,1
Coahuila	740	2,7	Nayarit	40	0,1
Colima	394	1,474	Morelos	9	0,034
Veracruz	240	0,898	Zacatecas	3	0,011

CNSPC, 2012.

2.2.1. Indicadores productivos

Las razas de conejos son clasificadas de acuerdo con la talla adulta y se dividen en cuatro grupos. Pesadas: el peso supera los 5 kg. Son ejemplares usados en el cruzamiento comercial, principalmente para la obtención de carne debido a su alta capacidad reproductiva y rápida tasa de crecimiento. Se destacan, el Gigante de Flandes, Gigante Mariposa Francés, el Gigante Blanco de Bouscal. Medianas: el peso adulto se encuentra entre 3,5 y 4,5 kg. Se utilizan razas puras o cruzadas en la producción intensiva de carne, gracias a su excelente tasa de crecimiento, capacidad reproductiva y eficiencia alimenticia. Se destacan las razas Nueva Zelanda blanca y roja, Californiana, Chinchilla, Plateado de Champagne, Plateado Inglés y Leonado de Borgoña. Entre las razas medianas para piel están el castor

Rex, la Chinchilla, la Azul de Viena, la Siberiana y la Satín. La Angora, especial para la producción de pelo, alcanza un peso aproximado de 4 kg en la edad adulta. Ligeras: el peso adulto varía entre 2,5 y 3 kg. Se destacan las razas Himalayo, Holandés y Habano Francés, caracterizados por su habilidad materna, su alta precocidad y el aporte de canales livianas pero con rendimiento en carne magra. Entre ellas se destacan el pequeño Chinchilla y la Lilac. Pequeñas: el peso adulto no supera 1 kg. Su principal representante es el Polaco, de baja capacidad reproductiva y reducidas tasas de crecimiento, por lo cual se utiliza como mascota o experimentos de laboratorio (González y Caravac, 2007).

Cuando se opte por un tipo de animal, se tendrá en cuenta; en primer lugar la utilidad del mismo ya sea para producir carne, piel o pelo. Luego, se deberá apreciar la calidad genética, sanidad y temperamento.

- Calidad genética: que los animales respondan primero al fenotipo y principalmente, que sean productores.
- Sanidad: de poco servirá elegir un animal enfermo ya que no solo mermará su producción, sino que posiblemente contaminará al resto de animales.
- Temperamento: teniendo en cuenta la sensibilidad asustadiza de los conejos, su comportamiento está sujeto al equilibrio del medio en que se explota. Cuanto más tranquilo sea el animal, más se garantizará su equilibrio neuro-vegetativo y su ritmo de vida evitando estados de estrés que le puedan provocar bloqueos en su conducta fisiológica (CNSPC, 2012).

Este carácter, fácilmente hereditario, pero decididamente influido por la calidad del alimento empleado, permite saber qué animal o grupo de ellos, convierten mejor el alimento en carne, y en consecuencia, cuántos kilogramos de alimento son

necesarios para que el animal aumente 1 kg de peso. Este valor se calcula según la siguiente fórmula:

$$\text{I C A} = \frac{\text{kg de alimento consumido en 40 días}}{\text{Peso a los 70 días de edad} - \text{peso a los 30 días}}$$

Si el animal ingiere 5 kg de alimento durante 40 días, y presente un peso de 500 g en el momento del destete, con peso de 2 kg a los 70 días de edad, el cálculo resulta:

$$\text{I C A} = \frac{5 \text{ kg}}{2 - 0,5 \text{ kg}} = 3,33 \text{ kg}$$

Por tanto, para aumentar 1 kg el animal debe utilizar 3,33 kg de alimento. De este modo, se puede saber de un modo bastante aproximado cuál es el valor nutritivo del alimento empleado. Ya que un animal, para hacer frente a sus necesidades y aumentar de peso, ingiere tanto más alimento cuanto menor es el poder nutritivo de éste (González y Caravac, 2007).

La mortalidad de gazapos durante la engorda más frecuente es de entre el 5 y el 10 %. Mortalidades superiores al 15 %, se pueden considerar elevadas y son debidas a un mal manejo y a malas condiciones higiénicas en el alojamiento. La mortalidad es menor con manejo en banda única, debido en parte a que se pueden respetar más fácilmente los periodos de vacío sanitario. La ganancia media diaria durante una engorda, puede variar entre 30 y 50 g/día, si bien son más frecuentes valores de 35 a 38 g/día. Considerando sólo el alimento consumido y el crecimiento de los gazapos entre el destete y el faenado, el índice de conversión se sitúa entre 3,0 y 3,5 (Sierra, 2012).

2.3. Calidad de la carne de conejo

El término calidad se refiere a la constitución o propiedades que un producto posee, de dichas características dependerá su aceptación por parte del consumidor. Las características más importantes de la carne fresca que determinan la calidad son las propiedades físico-químicas (pH, capacidad de retención de agua, color y textura, entre otros.), sensoriales (suavidad, consistencia, olor, sabor, entre otras) y microbiológicas. Estas propiedades, son influidas por factores independientes e interdependientes como sistema de producción, alimentación, grupo racial, transporte, estado de salud, manejo del animal antes y después del faenado, manejo de la carne y procedimientos de conservación. El estrés causado a los animales por un deficiente manejo *ante mortem* impacta negativamente en la calidad de la carne. El organismo de un animal estresado produce cambios hormonales muy intensos que afectan la composición del tejido muscular en el animal en vivo y las características de la carne obtenida (Ramírez, 2004).

La medición cuantitativa de la secreción de catecolaminas y de cortisol provocada por algún factor estresante, ofrece la posibilidad de determinar el grado de importancia de los factores desencadenantes del estrés. La cantidad de catecolaminas que fluyen en el torrente sanguíneo debido a un estímulo definido, no es significativamente diferente en animales sensibles y resistentes al estrés. La cantidad de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina), cortisol y tiroxina presentes en el torrente circulatorio se encuentran correlacionadas positivamente con la intensidad del estrés (Friend *et al.*, 1987).

2.3.1. Características de calidad de la carne

Es muy difícil producir un producto de alta calidad, pero es muy fácil deteriorar la calidad de la carne y su vida útil si no se tienen en todo momento los cuidados adecuados, que incluyen el evitar la contaminación microbiológica, física, química,

abusos de temperatura y exposición a factores ambientales deteriorantes (luz solar, entre otros). Por otro lado, en la industria existen diversos protocolos para recibir la materia prima (carne) que se va a utilizar (Lawrie, 1981).

La materia prima con adecuada calificación de calidad y adecuado procesamiento, tendrá una larga vida en anaquel; entre las características a considerar claves en la adecuada aceptación de materia prima cárnica se encuentran:

- El color (primer indicio de calidad y frescura del producto)
- El grado de maduración (se encuentra relacionado con la estabilidad de las fibras musculares y la interacción de olores de la carne)
- La capacidad de retención de agua (es un indicativo de lo sucedido desde transportación del animal, pasando por el faenado y enfriamiento, relacionado con la estabilidad de las fibras musculares y con la velocidad y amplitud de la caída del pH de la carne después del faenado)
- La carga microbiana inicial (la cual estará relacionada con todo el proceso de faenado, lavado de canales y mantenimiento de la cadena de frío) (Lawrie, 1981).

2.3.2. pH

El pH es un valor que determina si una sustancia es ácida, neutra o básica. Es determinado por el número de iones de hidrógeno presentes en una disolución. Una vez ocurrido el faenado del animal, se lleva a cabo el proceso de transformación del músculo en carne. La carne es el resultado de dos cambios bioquímicos que ocurren en el periodo *post mortem*: el establecimiento de *rigor mortis* y la maduración. El principal proceso que se lleva a cabo durante el establecimiento del *rigor mortis* es la acidificación muscular (Zimerman, 2008).

En el músculo en reposo, el adenosin tri fosfato (ATP) sirve para mantener el músculo en estado relajado. Tras la muerte del animal, cesa el aporte sanguíneo

de oxígeno y nutrientes al músculo, de manera que el mismo debe utilizar un metabolismo anaeróbico para transformar sus reservas de energía (glucógeno) en ATP con el fin de mantener su temperatura e integridad estructural. El ATP formado, se obtiene a través de la degradación de glucógeno en ácido láctico. Este último ya no puede ser retirado por el sistema sanguíneo, por lo tanto va a provocar el descenso del pH muscular (Warris, 2003).

Figura 1.Medición de pH en carne fresca.



Braña *et al.*, 2011.

El descenso del pH depende del tipo de fibras que predominan en el músculo y de la actividad muscular antes del faenado. Así, los músculos con predominio de fibras de contracción rápida (blancas) alcanzan valores finales de 5,5 mientras que en los músculos en donde predominan las fibras de contracción lenta (rojas) el pH no baja de 6,3 (Garrido *et al.*, 2005).

Para el caso del conejo, el pH se mide normalmente en el músculo *Longissimus* y en el *Bíceps femoris* (Blasco y Piles, 1990). Oliver *et al.*, (1997) encontraron

valores de pH de 5,70 y 5,77 en *Longissimus* obtenido de conejos alimentados con dietas suplementadas con aceite vegetal y grasa animal, respectivamente y un pH de 5,66 en la dieta control. Otros valores de pH publicados por varios autores en el músculo *Longissimus* de conejo ha sido: 5,66-5,71 (Blasco y Piles, 1990).

2.3.3. Conductividad eléctrica

La posibilidad de usar la conductividad eléctrica como parámetro de medición para determinar la calidad de la carne se basa en la modificación del intercambio del líquido intracelular (iones) muscular debido a las lesiones en el sistema de membranas durante la glucólisis *post mortem*. Para Schmitt *et al.* (1984) una conductividad de 5,0 mS/cm (miliSiemens por cm) a los 45 min *post mortem* indica calidad en la carne. Valores mayores a 9,0 mS/cm, determinan una carne con anomalías; entre ambos valores se encuentra una zona dudosa. En el mismo sentido, opinan Feldhusen *et al.* (1987), quienes reportaron un valor óptimo 4,8 mS/cm y 9,8 mS/cm como un parámetro que predice anomalías. Por lo anterior, la conductividad eléctrica ofrece una buena caracterización de carne normal.

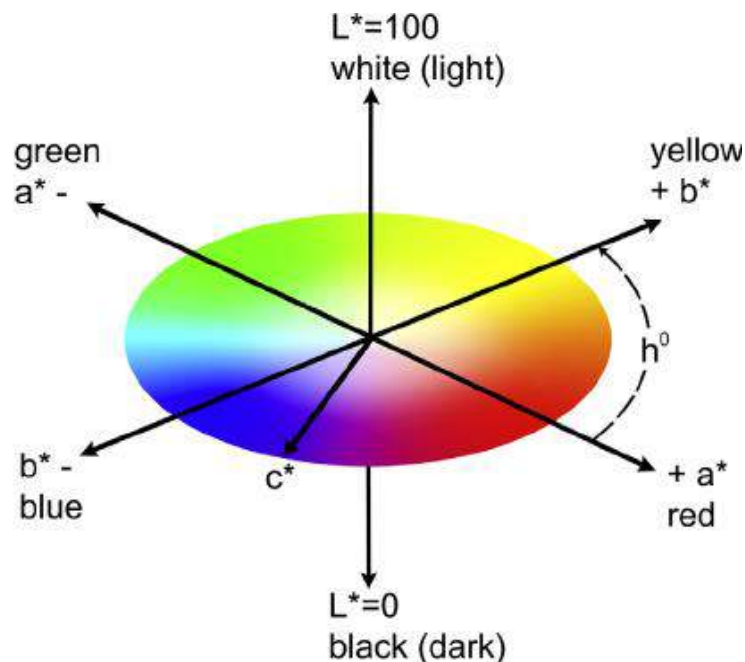
2.3.4. Color

La apariencia visual de la carne determina la respuesta del consumidor en su decisión de compra. El color es probablemente el principal factor que determina esta decisión. Este carácter se asocia con el pH y con el tiempo de maduración (Wulf y Wise, 1999). Por su parte, el estrés *ante mortem* puede producir alteraciones en el pH final de la carne y, en consecuencia, afectar su color. Es razonable pues pensar que un estrés por transporte puede afectar esta importante característica del producto y su aceptabilidad. El color evaluado en el espacio L*a*b* (CIE-Lab) permite tener una valoración objetiva y certera del color de la carne.

La Comisión Internacional de la Iluminación (Commission International de l'Éclairage - CIE) se basa en el uso de condiciones estándares del instrumento y de iluminación de la muestra para obtener valores de tres colores primarios. De los

cuales se calculan las coordenadas de color L^* [(luminosidad, varía de 0 (negro) a 100 (blanco)], a^* [(coordenada rojo-verde puede ser positivo (+60, rojo) o negativo (-60, verde)], b^* [(coordenada amarillo-azul puede ser positivo (+60, amarillo) o negativo (-60, azul)], C (tono) y H (saturación) (Figura 2) (Giese, 1995; Honikel, 1997).

Figura 2. Patrón de muestreo de color utilizado en el cálculo de CIELab.



Honikel, 1997.

A pesar de que varios pigmentos están presentes en el músculo, la oxidación de la mioglobina a oximioglobina es el principal contribuyente en el color rojo brillante característico de la carne (Smith *et al.*, 1999).

Aunque para evaluar la carne de conejo se obtengan valores que pudieran considerarla pálida ($L^* > 52$), este tipo de carne no presenta el problema PSE (Del Inglés: pale, soft and exudative) como el caso del cerdo, por lo que puede

considerarse como una carne blanca, pero no exudativa (Hulot y Ouhayoun, 1999).

Listel *et al.* (2004), evaluaron el color de una carne de conejo a un pH de 5,75 con valores de; L*: 59,48; a*: 2,49 y b*: 4,32. Ramírez en (2004), reportó un valor de L*: 54,9, a*: 2,84 y b*: 0,21 para carne de conejo.

2.3.5. Capacidad de retención de agua

Este concepto se define como la capacidad de la carne de retener agua durante la aplicación de fuerzas externas. La formación de ácido láctico y la consecuente caída del pH a valores de 5,8 con temperaturas a 38 °C, alteran las propiedades de las proteínas por la reducción del número total de grupos reactivos para ligar agua a la proteína. La excesiva pérdida de agua provoca un cambio en el estado químico del pigmento mioglobina por su conversión acelerada a metamioglobina (Swatland, 1991).

Además cuando estos músculos son cortados perpendicularmente al eje de las fibras musculares, se produce una exudación elevada y el tejido presenta una estructura delgada y abierta, por lo que la carne presenta poca consistencia (PSE). Las pérdidas por esta característica, pueden ser hasta del 1,7% del peso de la canal. En general, el promedio de pérdida es de 0,77%. El tipo de carne descrito al ser empacada para su exposición y venta sufre una decoloración poco atractiva, carece de textura y el empaque acumula una gran cantidad de fluidos debido a la excesiva pérdida de agua. Según Wirth (1985) si se almacena durante un día el producto puede perder hasta el 10% de su peso y si el almacenamiento es por 6 días las pérdidas pueden llegar hasta un 13,3 %.

Pla *et al.* (1998), calcularon valores de CRA de 34,43; 34,43; 35,59 y 35,62 % para tres líneas seleccionadas por diferentes objetivos. También Pla y Cervera (1997),

encontraron valores de CRA 33,5; 36,8 y 30,6 en conejos alimentados con dietas enriquecidas con grasa vegetal, animal y control, respectivamente. Los valores anteriores fueron muy similares a los publicados por Battaglini *et al.* (1994) 35,6-35,7 %.

2.3.6. Textura

La textura se define como “todos los atributos mecánicos, geométricos y superficiales de un producto, perceptibles por medio de receptores mecánicos, táctiles, y si es apropiado, visuales y auditivos” (Rosenthal, 1999).

La textura de la carne esta determinada directamente por las propiedades de las estructuras miofibrilares, conjuntivas y del citoesqueleto. Las cuales son muy variables dependiendo de la especie, raza, sexo y edad (Cequeño, 2005). Las propiedades relacionadas con la textura son las características más apreciadas por el consumidor y se caracterizan por ser difíciles de definir ya que al igual que el color, es subjetiva. El contenido de colágeno tiene una relacion directa con las propiedades de textura, la dureza aumenta con la edad y al parecer, esta relacionada con el tejido conectivo y muy especialmente, con las propiedades del colágeno (Ramírez, 2004).

Para evaluar la suavidad de la carne, el método más utilizado es el de Warner-Bratzler (Honikel, 1997). Para ello, es necesario el uso del texturómetro, que arroja medidas objetivas mediante el cálculo de la resistencia a la deformación o corte de una muestra al aplicar una fuerza dada. En ello intervienen fuerzas de tensión, corte y comprensión (Bourne, 1982). Ramírez (2004), reporta que la fuerza de corte del músculo *Longissimus* de conejo es de 3,82 kg a una cocción de 80 °C en agua durante 1 h.

2.4. Procesamiento de la carne

Según las Normas Oficiales Mexicanas, la carne de conejo debe obtenerse en un establecimiento autorizado que cumpla los requisitos determinados por la normativa técnico-sanitaria. Los mataderos y salas de despiece deben estar debidamente autorizados (NOM-009-ZOO-1995).

El faenado de conejos, debe llevarse a cabo por personal capacitado y en naves de construcción acondicionada a las necesidades específicas de higiene y manejo que marquen los requisitos sanitarios de los conejos, o bien en un rastro especialmente acondicionado. No obstante en nuestro país, donde la cunicultura aún se encuentra en un nivel bajo de producción, las granjas no cuentan con instalaciones que cubran todos los requisitos de un rastro, por lo que el faenado se realiza dentro de las mismas instalaciones (CNC, 2005).

Al realizar el faenado de los animales, existen múltiples factores que pueden contaminar la carne. La falta de cuidado e higiene por parte de los operadores es un punto relevante, ya que por descuido puede ocurrir contaminación con contenido gastrointestinal o con líquido biliar; igual ocurre si el animal tuviera abscesos (lesiones crónicas), si no se trabaja con cuidado, puede haber contaminación de la carne y desarrollo de olores desagradables (Aberle, 2002).

2.5. Deterioro de la carne

La carne y los productos cárnicos, son productos muy alterables por lo que deben manejarse con especial cuidado durante las operaciones de procesado. La alteración se inicia pronto, después del sangrado, como resultado de acciones microbianas químicas y físicas. El no aplicar las medidas de control de calidad, durante cualquier operación de procesado, aumenta la velocidad y la extensión de los cambios alternativos que llevan al deterioro y, finalmente, a la putrefacción de la carne, estos procesos harán la carne no apta para consumo (Martin, 2007).

Las bacterias causantes de deterioro son en su mayoría psicrófilas, que agrupan a todas aquellas especies con capacidad para crecer a temperaturas de refrigeración. Tienen una velocidad de crecimiento baja, la cual se incrementa cuando se abusa de las temperaturas frías. Su crecimiento comienza con el consumo de carbohidratos y oxígeno superficial. Los principales grupos bacterianos son *Pseudomonas spp.* y *Brochothrix termosphacta*. La metodología utilizada para su cuantificación es la que establece la NOM-092-SSA1-1994 (Tirado *et al.*, 2005).

El carácter distintivo de la carne alterada, o de cualquier otro alimento, es aquel momento en el que no resulta apto para el consumo humano. La alteración equivale generalmente a la descomposición y putrefacción, como consecuencia del crecimiento microbiano. Cuando la carne muestra signos evidentes de descomposición y putrefacción, no caben dudas acerca de su capacidad de no consumo. La alteración de la carne no implica necesariamente su descomposición o putrefacción, lo que es especialmente manifiesto en el caso de la carne, cuyo deterioro no se debe únicamente a la acción microbiana, sino también a factores tales como insectos, reacciones enzimáticas intrínsecas y oxidativas (Forrest *et al.* 1979).

2.5.1. Defectos de calidad en la carne

El proceso de faenado y disminución de la temperatura en la canal, es determinante para generar o no defectos en la carne. Además, para elaborar productos cárnicos de calidad u ofrecer un corte de carne fresca de calidad, debe utilizarse materia prima en las mejores condiciones, que sea útil y no sufra alteraciones durante los diferentes procesos que se va a someter. Un indicador de calidad al momento de elegir la carne es el grado de suavidad (terneza). La terneza de la carne está relacionada con factores genéticos, nutricionales, de manejo, de maduración, entre otros (Aberle, 2002; Berge *et al.*, 2003, García *et al.*,

2005, Karakaya *et al.*, 2005, Texeira *et al.*, 2005). Es relevante además, la velocidad y magnitud de cambio del pH de la carne durante las primeras 6 horas *post mortem*, ya que esto afectará la capacidad de retención de agua de la carne y por consiguiente la suavidad y el color. Una caída muy leve del pH, con mínima producción de ácido láctico en la fibra muscular después de la muerte, provoca la condición DFD (Del Inglés: dark, firm and dry); por otro lado una caída excesivamente rápida del pH (más ácido) provocará la condición PSE.

- Carnes DFD. Son carnes que presentan un pH superior a 6,1 y retienen mucha agua. Por lo tanto, son extremadamente susceptibles al desarrollo microbiano; son carnes de color oscuro, textura firme y una apariencia seca, debido a su elevada retención de agua. Un pH mayor a 6,2 puede dar origen a problemas tecnológicos, siendo un problema típico en la obtención de carne vacuna. Se asocia a estrés crónico en el animal, como los dietados excesivos que acaban con las reservas musculares de glucógeno y por ende no hay capacidad de producción de ácido láctico, es muy común en bovinos y ovinos (Lawrie, 1981; Hui *et al.*, 2006).

- Carnes PSE. En este caso, ya sea por factores genéticos, por exceso de estrés y maltrato a los cerdos, las reservas de glucógeno muscular se transforman aceleradamente en ácido láctico. Lo cual provoca un descenso rápido del pH, que se agrava cuando persisten temperaturas elevadas después de la muerte de los animales (arriba de 30 °C). Este ambiente ácido, acerca a las proteínas miofibrilares a su punto isoeléctrico por lo que se tiene una menor capacidad de retención de agua. Este es un problema que se observa sobre todo en aves y cerdos (Lawrie, 1981; Hui *et al.*, 2006).

Además de los defectos DFD y PSE, las carnes pueden tener otras alteraciones que impidan su uso por ejemplo:

1.- Olor y sabor, causado por determinados tipo de dieta: la carne de cerdos alimentados con gran cantidad de harina de pescado o residuos de lino, huele y sabe frecuentemente a pescado, o bien a rancio. Es frecuente que estas alteraciones solo se distingan después de hervir la carne. En los casos más extremos, el olor es claramente desagradable, y el tejido graso exhibe color gris o amarillo y una textura blanda. Dietas altas en aceites de mala calidad o en exceso, darán problemas de color de grasa y de grasa muy líquida (Aberle, 2002).

2.- Olor y sabor a medicinas, desinfectantes y similares: algunas sustancias pueden transmitir su olor y sabor a la carne. Entre otras, se encuentran especialmente el alcanfor, el petróleo, el éter y el pinol, entre otros. La carne de los animales faenados también toma diversos olores y los conserva por mucho tiempo, las alteraciones del olor y sabor pueden ser muy acentuadas. A diferencia de los anteriores, los químicos para reducir la carga microbiana (ácidos láctico, propiónico y acético) tienen un efecto bacteriostático, la mayoría de estos olores desaparece rápidamente por ser compuestos muy volátiles (Beales, 2004; Bradley *et al.*, 2011).

3.- Olor sexual, es aquel derivado de sustancias que naturalmente produce un animal para atraer a las hembras, o marcar territorio (feromonas como el escatol y la androstenona). Son producidas normalmente los machos sin castrar, en cerdos, ovinos y cabras. En general, su concentración aumenta con la edad. En cerdos, los machos se castran quirúrgicamente en edades tempranas (3 días de nacidos) o inmunológicamente 8 semanas antes de llegar a su peso de mercado, ya que de no hacerlo, la carne tendrá olor a orines y sudor (Aberle, 2002).

2.5.2. Calidad microbiológica

La carne es un excelente medio de cultivo para toda clase de microorganismos, por ser una matriz compleja, altamente nutritiva, biodisponible y con condiciones

favorables de pH muy cercanos a la neutralidad (5,5-6,5). Esto representa condiciones ideales para que, muchas bacterias y hongos sean capaces de crecer. Lamentablemente, esto incluye a microorganismos patógenos y deteriorantes. Es por ello que desde el momento del faenado, hasta la llegada del producto al consumidor final, deben mantenerse las características organolépticas y de sanidad de la carne (McMeekin *et al.*, 1993, Moore y Sheldon, 2003).

La mayor cantidad de bacterias deteriorantes son mesófilas (pues crecen entre 15-37 °C). Por esto, es importante enfriar rápidamente la canal de los animales recién faenados, para reducir la temperatura del animal (38-42 °C) a menos de 8 °C para minimizar la velocidad de crecimiento. Un inadecuado manejo de la temperatura, que principalmente implica fallas en la cadena de refrigeración, favorece el crecimiento microbiano, y es la principal causa de origen de enfermedades transmitidas por alimentos. Ya que se asocia con el crecimiento de bacterias patógenas, las cuales alcanzan niveles que producen enfermedades o intoxicaciones. Uno de los factores más importantes en la vida de anaquel, es la carga inicial de bacterias en la carne. Lo cual, depende de qué tan grande sea la carga inicial, será la población final que se alcance en una carne durante su vida útil. Las bacterias se reproducen exponencialmente, por lo que una población inicial alta, resultará en menor tiempo para alcanzar los niveles en que la carne se descomponga (Zwietering *et al.*, 1990 y 1991).

La flora microbiana de la carne está conformada de bacterias Gram positivas (micrococos, bacterias lácticas, *Shewanella putrefaciens* y *Brochotrix thermosphacta*) y Gram negativas (*Pseudomonas spp.* y enterobacterias). Otros grupos presentes en menor medida, son las bacterias saprófitas Gram positivas (*Kurthia* y algunos estafilococos no toxigénicos). Los microorganismos patógenos y toxinogénicos, provienen por lo general del tracto gastrointestinal de los

animales faenados, de animales enfermos o de contaminación cruzada debida a los operarios (Tirado *et al.*, 2005).

El género *Pseudomona*, se caracteriza por producir metabolitos como amoniaco y aminos biogénicas, entre otros, cuando la población llega a $>10^7$ UFC/g; la concentración de aminos biogénicas llega a usarse como indicador de la calidad de los productos cárnicos y existen técnicas por HPLC ya establecidas que permiten su determinación (Arinder y Borch, 1999; Lebert *et al.*, 2000).

Las BAL (bacterias acidolácticas), pertenecientes a la familia *Micrococcaceae* producen ácido láctico (llegando a pH $<5,3$) y péptidos bioactivos llamados bacteriocinas. Cuando la población en el alimento llega a $\geq 10^9$ UFC/g; se tiene la ventaja de que este grupo crece más lentamente a bajas temperaturas y condiciones anaerobias, siendo un competidor fuerte con la flora filogenéticamente semejante. La inhibición de cierto tipo de bacterias aerobias Gram negativas llega a aumentar la calidad de los productos, una alternativa es la inoculación de BAL, obtenidas de productos semejantes, para que puedan desarrollarse más rápidamente y se adapten al medio (Samelis *et al.*, 2000, Tirado *et al.*, 2005).

2.6. Conservación de la carne

La industria cárnica emplea diversos métodos para retrasar los cambios alternativos y prolongar el periodo de aceptabilidad. Los métodos de conservación tradicionales como congelación, pasterización, esterilización, deshidratación, están basados en la manipulación de uno o dos factores de conservación. En la actualidad, se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, evitando la aplicación de un solo factor de conservación en forma severa, lo que mejora la calidad sensorial y nutrimental del alimento; permitiendo el procesamiento de

productos semejantes al producto fresco, más sanos, con menos aditivos y listos para preparar y servir (Alzamora, 1997).

La vida útil de los productos perecederos como carnes, está limitada principalmente por dos factores: el efecto del oxígeno atmosférico y el crecimiento de microorganismos aerobios productores de alteraciones. Estos factores de forma individual, o asociados con otros, producen cambios del olor, sabor, color y textura y conducen a un deterioro general de la calidad. El almacenamiento refrigerado podría retrasar estos cambios indeseables, pero no incrementaría necesariamente la vida útil suficientemente para las exigencias de la distribución al por menor y para los objetivos de exposición en el punto de venta (Parry, 1995).

Algunas teorías evolucionistas, consideran que el consumo de alimentos ricos en proteína, energía y minerales, como lo son las carnes, fue uno de los factores clave que permitió la evolución del cerebro humano. Pero el tener acceso frecuente a esta carne, muchas veces era imposible de no contar con métodos que ayudarán a preservarla por algún tiempo (Davies, 1995). Esta necesidad, promovió el desarrollo de métodos de conservación como la salazón (en seco o salmuera) y el ahumado (en frío o caliente), entre otros. Esto, porque nuestros antepasados entendieron que tanto el salado, como la desecación o la deshidratación, disminuyen el contenido de agua de los alimentos y modifican su percepción sensorial. Gracias a esto, la cantidad de agua del alimento que queda disponible para los microorganismos se reduce hasta tal punto, que los microorganismos quedan inactivos o mueren (Marth, 1998).

Desde finales del siglo XIX, el principal método de preservación de la carne a largo plazo, ha sido la congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$; mientras que para períodos de tiempo cortos, se prefiere la refrigeración a temperaturas entre 0 y $4\text{ }^{\circ}\text{C}$. El mantenimiento de la cadena de frío se hace para salvaguardar la seguridad de los consumidores

y la protección de la salud pública (Eilert, 2005). Esto se logra por la desaceleración de reacciones enzimáticas propias de la misma carne, así como por la reducción del daño microbiano y/o contaminación biológica, puesto que la temperatura baja, reduce importantemente la replicación de la mayoría de los microorganismos, quienes son los responsables de la aparición del limo superficial, desarrollo de olores desagradables, así como de producir enfermedades, ya sea por la presencia particular de algunas de las bacterias como la *Salmonella*, o de toxinas microbianas derivadas de su metabolismo como las producidas por el *Staphylococcus aureus* (Arinder y Borch, 1999).

2.7. Sustancias antimicrobianas

El uso de antimicrobianos (conservadores) es una práctica común en la industria de los alimentos, por muchos años se han utilizado antimicrobianos sintetizados químicamente (que en algunos casos han causado daño en la salud de los consumidores, si se utilizan a grandes dosis o como en el caso de los sulfitos). Lo cual ha redundando en un rechazo por parte de los consumidores de productos procesados y surgido la necesidad de buscar otras opciones. En esta búsqueda, se han encontrado nuevos agentes antimicrobianos de origen natural, como sustitutos de los tradicionalmente utilizados (Nychas, 1995).

Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias. Lo más difícil es extraer, purificar, estabilizar e incorporar dicho antimicrobiano al alimento sin afectar su calidad sensorial y seguridad (Beuchat y Golden, 1989).

La actividad antimicrobiana de hierbas y plantas, es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales. Se ha observado que la grasa, proteína, concentración de sal, pH y temperatura afectan la actividad antimicrobiana de estos compuestos (Nychas, 1995).

Los antimicrobianos continúan estando entre los aditivos alimentarios más importantes. Esto, aumenta el interés por los antimicrobianos de origen natural que puedan extraerse para ser utilizados con el fin de prolongar la vida útil y la seguridad para el consumidor (Blanchard, 2000).

La mayor parte de los antimicrobianos alimentarios solamente son bacteriostáticos (sistemas de conservación que impiden el desarrollo de gérmenes) o fungistáticos, en lugar de bactericidas (sistemas de conservación que detienen el crecimiento de los hongos) o fungicidas, por lo que su efectividad sobre los alimentos es limitada. Por otra parte, debido a que algunos microorganismos pueden no verse inhibidos o destruidos por las dosis convencionales de antimicrobianos utilizados individualmente, puede ser preferible utilizar una combinación de ellos, ampliando así el espectro de cobertura en la preservación de frutas o alimentos en general (Blanchard, 2000).

Muchos alimentos contienen compuestos naturales con actividad antimicrobiana. En estado natural, estos compuestos pueden desempeñar el papel de prolongadores de la vida útil de los alimentos. Incluso muchos de ellos han sido estudiados por su potencial como antimicrobianos alimentarios directos. El uso de aditivos alimentarios de origen natural implica el aislamiento, purificación, estabilización e incorporación de dichos compuestos a los alimentos con fines antimicrobianos, sin que ello afecte negativamente a las características sensoriales, nutritivas y a su garantía sanitaria. Esto tiene que lograrse manteniendo los costos de formulación, procesamiento o comercialización. Los sistemas antimicrobianos naturales pueden clasificarse por su origen:

1. Origen animal, incluye proteínas, enzimas líticas tales como lisozima, hidrolasas tales como lipasas y proteasas (Beuchat, 2001).

2. Origen vegetal, incluye compuestos fenólicos provenientes de cortezas, tallos, hojas, flores, ácidos orgánicos presentes en frutos y fitoalexinas producidas en plantas (Beuchat, 2001).
3. Origen microbiano, incluye compuestos producidos por microorganismos.

2.7.1. Modo de acción de los agentes antimicrobianos

El modo de acción de los compuestos fenólicos no ha sido determinado, éstos pueden inactivar enzimas esenciales, reaccionar con la membrana celular o alterar la función del material genético y se ha observado que las grasas, proteínas, concentraciones de sal, pH y temperatura afecta la actividad antimicrobiana de estos compuestos. Los componentes activos de los aceites esenciales pueden variar en su composición, ya que ésta puede verse afectada por ciertas variables como el genotipo de la planta, las diferentes metodologías de extracción, localización geográfica, así como las condiciones ambientales y agronómicas (Smid y Gorris, 1999).

El mecanismo de ataque de los antimicrobianos dentro de una célula se lleva a cabo en partes y/o funciones importantes para la sobrevivencia de la célula. Puede llevarse a cabo en la pared celular, membrana celular, en la síntesis de proteína, en su genética y en la síntesis del material genético. Esto puede causar daños irreparables a una célula. De varios de los antimicrobianos no se conoce aún su modo de acción, pero al actuar de forma diferente, las combinaciones de estos pueden llevar a mejores resultados (Davidson y Branen, 1993).

2.8. El ajo (*Allium sativum*)

El ajo, es una planta comúnmente utilizada como agente saborizante y condimento en los alimentos. El ajo (*Allium sativum*), pertenece a la familia de las Liliáceas junto con la cebolla, el puerro y el tulipán. Es probablemente el alimento con potencial antimicrobiano más consumido. Las propiedades medicinales del ajo,

han sido estudiadas desde hace siglos. La alicina es el principal compuesto del mismo, en concentraciones de 1:85,000 en pruebas de laboratorio, se ha demostrado como bactericida con un amplio espectro para microorganismos Gram positivos y Gram negativos (Beuchat y Golden, 1989).

2.9. Composición química

El ajo está constituido por el bulbo subterráneo, conocido vulgarmente como cabeza de ajo. Éste, a su vez, está constituido por un número variable de bulbillos (los dientes), que están insertados sobre un eje aplastado. El ajo contiene numerosos componentes activos, de entre los que destacan sus compuestos azufrados. Si el bulbo está intacto y fresco, el componente mayoritario identificado es la aliína o sulfóxido de S-alil-cisteína (aminoácido azufrado). La aliína es una sustancia inodora e inestable, pero, además de ésta, en el bulbo intacto se encuentran otros compuestos azufrados solubles en medio acuoso, como son los sulfóxidos S-metil-L-cisteína y S-propenil- S-cisteína, S-glutatión, g-glutamil-S-alil cisteína, y g-glutamil-S-alil-mercapto-L-cisteína. Cuando los bulbos de ajo se almacenan a baja temperatura, la aliína se mantiene inalterable, mientras que cuando el ajo es machacado o triturado, la aliína se transforma en alicina y otros compuestos azufrados (tiosulfatos), por la acción de la enzima aliinasa. Estos últimos son muy inestables y se transforman con extrema rapidez en otros compuestos organosulfurados: sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo (mayoritario en la esencia de ajo), trisulfuro de dialilo y ajoenos, todos ellos solubles en medio oleoso. Se considera que 1 mg de aliína equivale a 0,45 mg de alicina. Las preparaciones comerciales de ajo normalmente se estandarizan según el contenido de los compuestos azufrados, particularmente de aliína, o del rendimiento de alicina. Además, en el bulbo de ajo se encuentran sales minerales (selenio), azúcares, lípidos, aminoácidos esenciales, saponinas, terpenos, vitaminas, enzimas, flavonoides y otros compuestos fenólicos. También se

considera que contiene aceite esencial, aunque éste no se encuentra preformado en el fármaco (Córdoba, 2010).

2.10. Aplicaciones terapéuticas

El uso terapéutico de ajo ha sido reconocido como un valor medicinal potencial de miles de años en diferentes microorganismos. Por ejemplo; antifúngico, antiviral, antihelmíntico, antibacteriano, antiséptico y anti-inflamatorias, propiedades del ajo que están bien documentados. Por otra parte, extractos de ajo exhibieron actividad contra bacterias Gram Negativas (*E. coli*, *Salmonella spp.* y *Enterobacter Citrobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*) y Gram positivas (*S. aureus*, *S. pneumoniae*, así como en *Bacillus anthrax*) las cuales son causa de morbilidad en todo el mundo (Deresse, 2010).

2.10.1. Actividad Antifúngica

Los extractos acuosos del ajo pueden inhibir el crecimiento de diversas especies de hongos con interés biomédico, industrial y agrícola. Las preparaciones de ajo y especialmente la alicina, resultaron biológicamente activas contra diversas especies de levaduras, hongos, dermatofitos y dimorfos, como se muestran en el Cuadro 4 (Ledezma, 2006).

La alicina es el componente principal responsable de la inhibición del crecimiento fúngico. Se encontró que la alicina pura tiene una alta actividad anticandidal con una concentración inhibitoria mínima de 7 mg/mL. La alicina inhibe tanto la germinación de esporas y el crecimiento de hifas. Las sensibilidades de varias levaduras clínicamente importantes a una preparación pura de alicina se determinaron y se encontró que son muy significativas (Mirelman y Serge, 1999).

Cuadro 4. Efecto de la alicina sobre diversos hongos patógenos.

Cepa fúngica	Concentración de alicina (µg/mL)
<i>Candida albicans</i>	0,8
<i>Candida neoformans</i>	0,3
<i>Candida parapsilosis</i>	0,15
<i>Candida tropicalis</i>	0,3
<i>Candida krusei</i>	0,3
<i>Torulopsis glabrata</i>	0,3
<i>Torulopsis glabrata</i>	1,9

Mirelman y Serge, 1999.

2.10.2. Actividad Antimicrobiana

Varias preparaciones de ajo han demostrado que presentan un amplio espectro de actividad antibacteriana contra las bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo especies de *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, y *Clostridium*. Su actividad antibacteriana se debe principalmente a la presencia de alicina producida por la actividad enzimática de la alinasa sobre la aliina. La alicina se considera que es el agente antibacteriano más potente en los extractos de ajo machacados, algunos microorganismos se mencionan en el Cuadro 5 (Gebreyohanne, 2013).

El mecanismo de la actividad antimicrobiana del ajo, se basa en la inhibición de la actividad de enzimas como: fosfatasa alcalina, invertasa, ureasa y papaína, así como de enzimas sulfhídricas. La alicina inhibe la actividad de enzimas sulfhídricas debido a la presencia de los grupos químicos S-O-S (Davidson y Parish, 1989).

Cuadro 5. Sensibilidad de diversas especies bacterianas a alicina

Cepa bacteriana	Concentración de alicina (LD ₅₀ µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	15
<i>Escherichia coli</i>	15
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
<i>Staphylococcus aureus</i>	12
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3
<i>Streptococcus hemolyticus</i>	>100
<i>Proteus mirabilis</i>	15
<i>Proteus mirabilis</i>	>30
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	>100
<i>Acinetobacter baumannii</i>	15
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
<i>Enterococcus faecium</i>	>100

Mirelman y Serge., 1999.

2.10.3. Actividad antioxidante

El ajo tiene una capacidad antioxidante muy potente, debido a que muchos de sus componentes activos son eficaces para inhibir la formación de radicales libres. Además, refuerzan el mecanismo de captación de radicales endógenos, aumentan las enzimas antioxidantes celulares como la superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa y protegen a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación causada por los radicales libres (López, 2007).

Esta propiedad antioxidante solo la adquiere el ajo cuando esta manipulado, permitiendo que bajo esas condiciones se modifican compuestos inestables, como la alicina e incrementan el número de componentes estables hidrofílicos y altamente biodisponibles. Estos extractos también contienen fotoquímicos, selenio

y flavonoides, en especial la alixina, que mejoran su capacidad antioxidante (Rahman, 2007).

Todo el ajo y el extracto de ajo envejecido, muestran efectos antioxidantes directos y mejorar los niveles séricos de dos enzimas antioxidantes, catalasa y glutatión peroxidasa. Componentes del ajo, como S-alil-cisteína, también confirmaron efectos antioxidantes significativos. Los compuestos de azufre que se encuentran en el ajo fresco son casi 1000 veces más potente como antioxidantes que el extracto de ajo envejecido (Gebreyohanne y Gebreyohanne, 2013).

2.11. Extracto de ajo

Un proceso extractivo, debe definir la selectividad del solvente a ser usado en el proceso. Dependiendo del propósito al que se destine, se puede obtener un extracto cuya composición química contiene la mayor parte de los contribuyentes químicos de la planta, o un extracto que contiene solamente contribuyentes químicos con una determinada característica. Muchos de los beneficios de las plantas son conocidos y utilizados como antimicrobianos, insecticidas, antioxidantes. Estos efectos son debidos a compuestos sintetizados por las células de las plantas que no son estrictamente necesarios para el crecimiento o reproducción, se denominan metabolitos secundarios (Sharapin, 2000).

El ajo contiene numerosos componentes activos, de entre los que destacan sus compuestos azufrados, cuya presencia, su proporción o su ausencia en los distintos preparados dependen de manera decisiva del procesado. Los preparados relacionados en el Cuadro 6, son los utilizados con mayor frecuencia.

Cuadro 6. Preparados de ajo más utilizados y sus características

Ajo deshidratado pulverizado y encapsulado	Su manipulación origina pérdidas casi totales de aliína
Aceite esencial de ajo	Se obtiene por destilación y carece de alicina y de compuestos hidrosolubles en medio oleoso (Disulfuro de dialilo y trisulfuro de dialilo).
Macerado de ajo	Es el producto obtenido por maceración de ajo. Contiene aliína y alicina. La alicina se descompone instantáneamente en numerosos compuestos organosulfurados (sulfuros, ajoenos y ditiínas).
Extracto envejecido de ajo (AGE)	Es el extracto obtenido por maceración de láminas de bulbo de ajo en solución hidroalcohólica (15-20%) durante 20 meses o más, a temperatura ambiente (posteriormente se filtra y concentra a baja temperatura y presión reducida). Este extracto es rico en derivados azufrados solubles en agua, especialmente S-alil-mercapto-cisteína. También contiene alil-sulfuros liposolubles estables, flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas y otros nutrientes esenciales. Carece de compuestos liposolubles inestables (alicina).

López, 2007.

2.12. Biodisponibilidad del ajo

El metabolismo, excreción y farmacocinética de S-alil-L-cisteína (SAC), componente activo del de ajo, se examinaron en ratas y perros. Una sola dosis de SAC fue administrado por vía oral o por vía intravenosa a ratas (5 mg/kg) y perros

(2 mg/kg). La SAC se absorbió bien (biodisponibilidades de > 90%) y sus cuatro metabolitos, N-acetil-S-alil-L-cisteína (NAC-SAC), N-acetil-S-alil-L-cisteína sulfóxido (NAC-SACS), S-alil-L-cisteína sulfóxido (SACS) y L-γ-glutamyl-S-alil-L-cisteína, fueron identificados en el plasma y orina. El metabolismo de SAC a NAC-SAC, metabolito principal de la SAC, se estudió *in vitro* e *in vivo*. Después de la administración intravenosa de NAC-SAC, SAC apareció en el plasma y la concentración se redujo en paralelo con la de NAC-SAC. Estos resultados, sugieren que la tasa y la extensión de la formación de NAc-SAC se determinaron por la N-acetilación y desacetilación actividades de hígado y riñón. También, NAC-SACS se detectó en el plasma después de la administración intravenosa de NAC-SAC o SACS. Lo que sugiere, que la NAC-SACS podría ser formada a través de ambos N-acetilación de SACS y S-oxidación de NAC-SAC. En conclusión, este estudio ha demostrado que la farmacocinética de la SAC en ratas y perros, se caracterizan por su alta biodisponibilidad oral, N-acetilación y metabolismos S-oxidación, y extensa reabsorción renal, indicando las funciones críticas de hígado y de riñón en la eliminación de la SAC (Amano *et al.*, 2015).

2.13. Efecto del ajo en la calidad sanitaria de la carne

Se ha demostrado que compuestos azufrados solubles en agua son más bioactivos (López, 2007). Igualmente, se han examinado efectos del extracto de ajo con el fin de mejorar las cualidades sensoriales y extender la vida útil de la carne y productos cárnicos (Goulas y Kontominas, 2007).

Park y Chin (2010), evaluaron la capacidad antioxidante y antimicrobiana de extractos de ajo utilizando distintos solventes y adicionándolos a medallones de carne molida de cerdo, con el fin de determinar si éstos podrían sustituir a los aditivos sintéticos. Los resultados mostraron que todos los extractos retardaban la oxidación de lípidos significativamente e inhibían el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* 0157:H7. De igual forma, se investigó el

potencial antioxidante y antimicrobiano de algunos compuestos azufrados presentes en el ajo contra la decoloración, oxidación de lípidos y crecimiento microbiano de carne de res. Se obtuvo un retraso significativo en la oxidación de oximioglobina y de los lípidos, así como una inhibición de cinco cepas inoculadas intencionalmente (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Campylobacter jejuni*) (Yin y Cheng, 2003).

Por otra parte, Gheisari y Ranjbar (2012) investigaron la capacidad antioxidante y antimicrobiana de diferentes presentaciones de ajo (fresco, en polvo y aceite esencial) adicionadas a carne de camello, almacenada en refrigeración. Los resultados mostraron un retardo en la oxidación de lípidos y crecimiento microbiano, siendo los ingredientes más efectivos el ajo fresco o en polvo para la conservación de este producto. Asimismo, Park *et al.* (2008) adicionaron ajo y cebolla en polvo a lomo y panza de cerdo, con el fin de evaluar sus propiedades fisicoquímicas, antioxidantes y antimicrobianas. A lo cual obtuvieron, un incremento en las tonalidades rojizas amarillas del producto. La adición de estos componentes, redujo en índice de peróxido, contenido de productos oxidativos volátiles y cuenta microbiana. Kim *et al.* (2010), marinaron carne de cerdo con jugo de ajo y cebolla para determinar su efecto en la oxidación de lípidos y calidad durante el almacenamiento en refrigeración. Se obtuvo una disminución en la luminosidad y tonalidades amarillas, respecto a la carne sin adición de jugos, así como un aumento en las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Sensorialmente, los jugos de ajo y cebolla le proporcionaron a la carne una mayor suavidad y mejores atributos de sabor. Otros estudios, han probado la efectividad de extractos de ajo en la conservación de canales de aves frescas almacenadas en refrigeración. En donde, se ha obtenido una reducción significativa en la contaminación microbiana, al inhibir el crecimiento de microorganismos Mesófilos y reducir el crecimiento de Coliformes Totales y Fecales (De Moura *et al.*, 2005).

Así mismo, Pacheco *et al.*, (2011) estudiaron el efecto de ajo en solución acuosa sobre la calidad microbiológica y oxidación lipídica en rebanadas de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*) almacenadas a 4 °C, quienes reportaron un retraso significativo en la oxidación de lípidos, así como en la proliferación de bacterias psicrótroficas, bacterias productoras de sulfuro de hidrógeno, bacterias ácido lácticas y de la familia Enterobacteriaceae, por al menos 15 días.

III. JUSTIFICACIÓN

La calidad de la carne tradicionalmente es determinada por aspectos como su apariencia, textura, así como su aroma y sabor. No obstante, actualmente otros factores como el valor nutritivo y la seguridad alimentaria han cobrado gran importancia en la calidad de la carne. La carne de conejo tiene un alto valor nutritivo en comparación con otras carnes; es particularmente saludable por su bajo contenido en grasas y calorías por su riqueza en proteínas. Posee una alta proporción de proteínas y una alta calidad de las mismas pues contiene un mejor balance de aminoácidos que otras carnes (res, cerdo y pollo). Es por esto, que la carne de conejo puede ser considerada un alimento funcional. Hoy en día, ha surgido la necesidad de buscar alternativas de conservación de la carne que prolonguen por más tiempo su vida de anaquel. La demanda de productos frescos mínimamente tratados está aumentando, así como el interés por los agentes antimicrobianos de origen natural, por esto en la actualidad se busca la combinación de dos o más factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente controlando a la población microbiana, lo que permite con esto productos semejantes al producto fresco pero con menos aditivos. Cabe señalar que la velocidad de deterioro microbiológico no solo depende de los microorganismos presentes, sino también de la combinación química del producto y del tipo de carga microbiana inicial. El ajo, es considerado un antimicrobiano natural potente, capaz de combatir microorganismos causantes de enfermedades, pudiendo también afectar el crecimiento de los causantes del deterioro de la carne, además tiene bajo costo y las cantidades que se utilizan son muy bajas. Se ha probado su efecto en diferentes especies y en diferentes presentaciones (polvo, aceite esencial, fresco), sin embargo, una de las mejores opciones en costo-beneficio es en fresco por medio del agua o alimento, ya que sus compuestos antimicrobianos están activos al ser ingeridos y la probabilidad de que sean metabolizados de manera positiva por el organismo del conejo es mayor.

IV. HIPÓTESIS

La adición de extracto acuoso de ajo en la dieta de conejos, conserva la calidad sanitaria de la carne, aumentando la vida de anaquel por al menos dos días.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Evaluar el efecto de la adición de extracto acuoso de ajo en la dieta de conejos sobre la calidad sanitaria de la carne en vida de anaquel.

Objetivos específicos

- Determinar las dosis de extracto acuoso de ajo en un estudio *in vitro*, para adicionarlo en la dieta de conejo.
- Cuantificar las Unidades Formadoras de Colonias de Mesófilos Aerobios, Coliformes Fecales y Psicrófilos en carne de conejo a diferentes concentraciones de extracto acuoso de ajo a los días 1, 3, 5, 7 y 9 de vida de anaquel.
- Evaluar el color objetivo y pH, en carne de conejo a diferentes concentraciones de extracto acuoso de ajo a los días 1, 3, 5, 7 y 9 de vida de anaquel.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo este trabajo se planteó un experimento *in vitro* para que económicamente se determinará los dos niveles con mejores resultados para ser utilizados en animales *in vivo*.

6.1. Experimento 1

El experimento *in vitro* se realizó en el laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Preparación del extracto

El extracto acuoso se elaboró con 50 g de ajo por cada 400 mL de agua (0,125 g/mL). Los ajos se licuaron por 5 min (Oster 6630-13) y se filtró dicho extracto dos veces con gasas. El extracto acuoso de ajo (EAA) resultante, se almacenó en refrigeración (4 °C) (Rasul *et al.*, 2012; Salem *et al.*, 2014).

Sustrato

Se utilizó como sustrato, alimento comercial base de pellet marca Conejo Plus Unión Tepexpan, cuyo perfil de nutrientes fue Proteína Cruda: 16,5%; Grasa Cruda: 3%; Fibra Cruda: 15%; Cenizas: 9%; Humedad: 12% y Extracto libre de Nitrógeno 44,5%. Es utilizado para la engorda de conejos en la granja CUNINEZA, donde se realizó, posteriormente la engorda. El alimento fue secado a 45 °C por 48 h y molido a criba de 2 mm.

Preparación del inóculo cecal

Como donadores del contenido cecal, se utilizaron 3 conejos cruza Nueva Zelanda con Chinchilla de aproximadamente 11 semanas de edad (2,21±0,13 kg),

alimentados con una dieta comercial marca Conejo Plus Unión Tepexpan. Se mantuvo a temperatura constante (39 °C) para su posterior filtrado.

Incubación *In vitro*

La producción de gas se realizó de acuerdo a la técnica descrita por Theodorou *et al.* (1994) con modificaciones de Mauricio *et al.* (1999). De acuerdo a la técnica de Salem *et al.* (2015) se incubaron por triplicado, 4 dosis de extracto acuoso de ajo a las concentraciones de: 0; 0,6; 1,2; y 1,8 mL. Se utilizaron frascos de vidrio de color ámbar de 115 mL de capacidad y se colocaron 0,5 g de la dieta comercial. Posteriormente, se agregaron 40 mL de medio nutritivo junto con 10 g del inóculo cecal. Así, se agregó el inóculo al frasco, se mantuvo un flujo continuo de CO₂, para mantener la condición de anaerobiosis y no afectar los microorganismos presentes. Se adicionó también el extracto acuoso de ajo a las diferentes concentraciones, todos a 39 °C. Al momento de retirar la fuente de CO₂ se colocó un tapón de goma y luego se selló con un anillo de plástico y cinta adhesiva para cerrarlos herméticamente. Los frascos se colocaron a 39 °C en horno de ventilación forzada y mediante la punción del tapón de goma con una aguja hipodérmica, se ajustó a cero la presión de gas del interior de cada frasco. A partir de ese momento, se observó la presión generada por la fermentación del sustrato a las 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48, 60 y 72 h (Extech Instruments, Waltham, EE.UU.). Se midieron gases totales por medio de un manómetro (Extech 407910) y CO₂ con ayuda de medidor de gas (Crowcon Gas-Pro). Al final de la incubación (72 h), las botellas fueron destapadas para medir pH del contenido, el cual se filtró, para la determinación de sustrato degradado aparente.

6.2. Experimento 2

Engorda

El estudio se realizó en la Granja Matriz de Distribuidora de Conejos Nezahualcóyotl (DISCONNEZA), ubicada en el municipio de Nezahualcóyotl, Estado de México.

Se ha demostrado que los compuestos azufrados del ajo solubles en agua son más bioactivos (López *et al.*, 2007). Además que el extracto acuoso no genera problemas de salud en los conejos como lo harían extractos con solventes. El extracto acuoso se elaboró con 50 g de ajo por cada 400 mL de agua (0,125 g/mL), los ajos se licuaron por 5 min (Oster 6630-13) filtrando dicho extracto dos veces con gasas, el extracto acuoso de ajo (EAA) resultante se almacenó en refrigeración (4 °C) (Rasul *et al.*, 2012; Salem *et al.*, 2014).

El extracto se mezcló con el alimento comercial (Conejo plus unión Tepexpan; proteína bruta: 16,5%; grasa cruda: 3%; fibra cruda: 15%; cenizas: 9% y humedad: 12%) asperjándolo cada tercer día. La determinación de las dosis se hizo previamente en un estudio *in vitro* simulando la digestibilidad cecal del conejo, midiendo la producción de gas y de CO₂ así como la degradabilidad de la materia seca. Las dosis fueron: 8,4 mL de agua por jaula para los conejos del grupo testigo (GT); 4,2 mL de EAA con 4,2 mL de agua para el tratamiento uno (T1) y 8,4 mL de EAA para el tratamiento dos (T2).

Faenado

Al cumplirse 40 días de la adición del extracto de ajo en la dieta de los conejos (tiempo que dura la engorda), los animales fueron restringidos de alimento 24 h para ser faenados. Se insensibilizaron por dislocación atlanto-occipital (NOM-033-SAG/ZOO-2014) se degollaron y desangraron. Para lo cual, se realizó un corte en la línea alba se retiraron las vísceras abdominales y torácicas. Por último, se cortaron las extremidades y se colocaron en un contenedor con agua limpia. Las

canales fueron identificadas y transportadas a 4 °C al laboratorio de Ciencia y Tecnología de la Carne de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México, para el análisis de las variables color y pH. Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Coliformes Fecales, Mesófilos Aerobios y Psicrófilos se determinaron en el laboratorio de Calidad de los Productos Agropecuarios de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México.

Análisis Microbiológicos

Para la cuantificación de las UFC de Coliformes Fecales se siguieron las Normas (AFNOR-NF-V-0860-1996), para Mesófilos Aerobios y Psicrófilos (NOM-092-SSA1-199). Se agregó 1 g de carne a tubos de ensaye con 9 mL de agua peptonada salina estéril (0,1% peptona + 0,9% NaCl). Los tubos se agitaron vigorosamente para uniformizar la distribución de los microorganismos. Se prepararon diluciones decimales hasta 10^{-2} . Las muestras se analizaron a los días 1, 3, 5, 7 y 9 días en vida de anaquel. La cuenta microbiana (UFC) se convirtió a \log^{10} UFC/cm² por muestra.

Análisis Físicos

Se tomó la primera lectura de pH (Hanna Instruments, modelo HI 99163) y color (Minolta Chromameter CR 400) *in situ* en el músculo *Longissimus dorsi* derecho de las canales a los 45 min *post mortem*. Los análisis subsecuentes se realizaron en las muestras tomadas del mismo músculo durante los días 1, 3, 5, 7 y 9 en vida de anaquel a 4 °C.

Diseño experimental

Para los indicadores productivos se realizó un ANOVA ($P \leq 0,05$) al encontrar diferencias significativas, se aplicó una comparación de medias de Tukey al 5%, las variables de estudio fueron los tres tratamientos y las variables respuesta

fueron: peso semanal, ganancia de peso semanal y conversión alimenticia durante un periodo de 4 semanas.

A los resultados del estudio microbiológico obtenidos, se les aplicó un Análisis de Varianza Multivariado ($P \leq 0,05$) para determinar el efecto de los tratamientos, días y la combinación tratamiento por día. Donde la variable de estudio fueron los tratamientos y las variables respuesta: UFC de Coliformes Fecales, Mesófilos Aerobios, Psicrófilos, pH, luminosidad, tonalidad de rojos y tonalidad de amarillos. Para los valores que presentaron diferencias significativas, se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey al 5%.

VII. RESULTADOS

7.1. Artículo 1

Influence of supplementing Rabbit Diet with Garlic Extract on in Vitro Gas Production Kinetics and Fermentation Profiles

H. Daniel Arzate-Serrano^a, M. Antonia Mariezcurrena-Berasain^a; M. Dolores Mariezcurrena-Berasain^b; D. Luz Pinzón-Martínez^b; E.A. Ugbogu^c, Abdelfattah Z. M. Salem.^a

^a Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Campus Universitario El Cerrillo. Toluca, México. C. P. 50090, México.

^b Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus Universitario El Cerrillo. Toluca, México. C. P. 50090, México.

^c Department of Biochemistry, Abia State University, P.M.B 2000, Uturu, Abia State, Nigeria.

Abstract

The aim of this present study was to evaluate the effect of rabbit diets supplemented with garlic extract on in vitro gas production (GP), carbón dioxide CO₂ production and some ruminal fermentation parameters. Garlic extracts were prepared at 0.125 g/mL and added at four different doses: 0 (control without garlic extract), 0.6, 1.2 and 1.8 mL extract/g dry matter (DM) The in vitro gas production was evaluated at 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 hr incubation. The results showed quadratic increase in asymptotic GP (P=0.027) and rate of GP (P=0.037) but no linear or quadratic effects (P>0.05) was observed for initial delay before GP, however inclusion of garlic extracts at 0.6 and 1.2 mL extract/g DM increased asymptotic GP compared to control. In vitro GY, there were quadratic effects (P=0.043) for GP₂₄ and (P=0.029) for GP₄₈ incubation times. There were no linear and quadratic effects (P>0.05) in in vitro CO₂ production for all the incubation times, however the dose of 1.2 mL/g DM had the highest in vitro CO₂ production at 12 hr, 24 hr and 48 hr incubations. The results of this study suggest that supplementation of garlic extract at 1.2 mL/g DM was most effective for improving ruminal

25 fermentation of rabbits compared with other tested doses.

26 **Key words:** Garlic extract, in vitro gas production, degradation, rabbit.

27

28 **Introduction**

29 In agro-based industries chemical additives such as antibiotics, ionophore, gas inhibitors and
30 defaunating agents use in supplementing feed diets to enhance the efficiency of nutrient use and
31 also reduce methane (CH₄) production have been prohibited in the European Union due to their
32 potential toxic effects to humans and its environment (Official Journal of the European Union,
33 2003). These negative impacts especially from antibiotics have compelled the nutritional
34 scientists to exploit the use of natural safe feed additives such as plant extracts to improve
35 nutrient utilization, digestibility of fibrous feeds, increase microbial protein production and also
36 reduce both protein degradability and emission of greenhouse gases (Patra and Saxena et al.,
37 2011).

38 Many plant extracts contain reasonable amount of secondary metabolites also known as
39 phytochemicals such as alkaloids, phenolics, saponins, tannins and terpenoids. These secondary
40 metabolites are part of grazing animal diets and play essential roles as antibacterial, antioxidants,
41 anticiccidial and anthelmintic with the capacity to modify rumen fermentation pattern (Salem et
42 al., 2011). Rumen microbes have the capacity to metabolise and utilize lower concentration of
43 alkaloids, saponins and phenolics as a source of energy without any residual effects on rumen
44 productions (Salem et al., 2014a). These chemical components also inhibit enteric
45 methanogenesis and reduce ammonia release in rumen. However, consumption of higher doses of
46 tannins and saponins may have haemolytic effect and lead to death of the animals (Athanasiadou
47 and Kyriazakis 2004).

48 Currently, the use of plant extracts as feed additives have gained substantial interest thus leading

49 researchers into a new, safer and inexpensive way of improving the performance of ruminant
50 production. Researchers have reported that plant extracts as natural feed additives improves
51 rumen fermentation efficiency, enhance protein metabolism, decrease greenhouse gas production,
52 reduce nutritional stress such as bloating and also improve animal health and productivity
53 (McIntosh et al., 2003; Patra et al., 2006; Benchaar et al., 2007).

54 Salem et al. (2014b) reported that the extracts of *B. crassifolia*, *C. pallida*, *E. cyclocarpum*, *F.*
55 *excelsior*, *F. trigonata*, *P. brevifolium* and *P. domestica* at doses of 1.2-1.8 mL/g diet positively
56 modified rumen fermentation. Also plant extracts with high flavonoid contents have the
57 potentials to decreased methane production and yield more microbial biomass thus resulting in
58 higher degradability and utilization of CP and cell-wall constituents (Broudiscou et al. 2002).
59 Salem (2012) found that ingestion of tree leaf extracts of *S. babylonica* and *L. leucocephala*
60 reduced ruminal in vitro GP, fermentation and increased digestibility. Ishtiyak et al. (2010)
61 observed that addition of *Trigonella foenumgraecum* improved the in vitro dry matter and
62 organic matter digestibility. El-Adawya et al. (2008) reported positive effect of ZADO®
63 addition on browse leaves degradation in rabbits indicating positive effects on the caecal
64 microbial activity and nutrient digestion.

65 Rabbit diets present an endogenic complexity together with its digestive physiology (Cecotrophy)
66 making it an extreme sensitive animal during diet compositions. Recent researchers are
67 interested to evaluate the potential use of natural antimicrobials such garlic and other plant
68 extracts to improve rumen ecology. Garlic (*Allium sativum*) has been recognised not only as spice
69 or herb plant but also as an antimicrobial agent. The antimicrobial properties of garlic are
70 associated to the presence of organosulfur compounds such as allicin, diallyl sulphide, diallyl
71 disulphide, S-allylcysteine and allyl mercaptan among others (Lawson, 1996). The manipulations
72 of these organosulfur compounds could change rumen fermentation patterns by decreasing the

73 proportion of acetate and increasing the proportion of propionate and butyrate. They can also
74 inhibit methanogenesis and decrease the methane (CH₄): volatile fatty acid (VFA) ratio (Busquet
75 et al., 2005a, b; 2006). Mbiriri et al. (2016) have shown that blending of garlic oil, fumarate and
76 nitrate suppressed in vitro CH₄ production without affecting total volatile fatty acid concentration.
77 Kongmun et al. (2010) measured the in vitro effect of garlic powder and coconut oil fermentation
78 in buffalo ruminal fluid and concluded that this mixture has the potentials to improve ruminal
79 fluid fermentation and could reduce CH₄ production and protozoal population. Patra et al. (2010)
80 reported that ethanol and methanol extract of fennel, cloves and garlic had positive inhibition
81 effects on CH₄ production.

82 The in vitro gas production methodology has been used to evaluate the rumen degradation of
83 ruminant diets (Vallejo et al., 2016), which allows determination of short chain fatty acid, the
84 energy value of the feed and the amount of fermented substrate used to synthesis microbial
85 protein. This present study was conducted to investigate the effects of supplementing Rabbit diets
86 with garlic extract at different doses on gas production and ruminal fermentation profiles.

87

88 **Methodology**

89 In vitro experimental process was made at the Bromatological Laboratory Faculty of veterinary
90 medicine and zootechnics from Autonomous Mexico State University.

91 **Aqueous extract preparation**

92 Exactly 50 g of powdered garlic were dissolved in 400 mL of distilled H₂O (0.125 g/mL) and the
93 mixture was blended for 5 min (Oster 6630-13) and immediately filtrated twice with GASAS.
94 The filtrates (Garlic extract (GE)) were collected and stored at 4 °C in the refrigerator for further
95 use.

96 **Substrates and treatments**

97 Garlic extracts were investigated at four different doses; 0, 0.6, 1.2 and 1.8 mL/g DM of rabbit
98 diet. A commercial food (Union plus Rabbit Tepexpan) base was used as substrate and its
99 nutritional composition was 16.5 % crude protein, 3% crude fat, 15% crude fibre, 9% ashes, 12%
100 moisture and 44.5% free nitrogenous extract.

101 **Cecal inoculum preparation**

102 Three eleven (11) months old Chinchilla/New Zealand crossbreed rabbits (2.21 ± 0.13 kg) were
103 used as faecal content donors. Rabbit donors were fed with the Plus Union Tepexpan commercial
104 diet; besides, samples were collected in the morning.

105 **In vitro Incubation**

106 Gas production (GP) was evaluated according to method of Theodorou et al. (1994) as modified
107 by Mauricio et al. (1999). Four (0, 0.6, 1.2 and 1.8 mL) of aqueous garlic extract doses were
108 incubated in triplicate. Exactly 0.5 g of commercial food was placed in 115 mL volume capacity
109 amber coloured glass jars with appropriate addition of garlic extract dose mL/g DM and then 10 g
110 of faecal inoculum were added, followed by addition of 40 mL of the buffer solution of Goering
111 and Van Soest (1970) without any trypticase. After all addition, the glass jars were flushed with
112 CO₂ and closed immediately with stoppers, shaken and incubated at 39°C for 72 hours. The
113 volume of gas produced was measured at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 hours
114 (Extech Instruments Waltham, EE. UU). Total and CO₂ gas production were measured with a
115 pressure gauge (Extech 407910) and a Gas meter (Crowcon Gas-Pro), respectably. All amber
116 glass jars were uncapped at the final incubation time (72 h) and the pH was measured with pH
117 meter (Orion Star A215, Thermos Cientific, 2015). The content of each amber glass jars was
118 filtered under vacuum through sintered filter with glass crucible. The fermentation residues were
119 dried at 65°C for 72 hours to estimate potential dry matter disappearance (DMD).

120 **Calculations**

Gas accumulation pressure at the top jars was measure with a pressure transducer connected to a digital reader. Psi unit conversion was determinate through a previously equation obtained by SAS program (PROC REG, 2002):

$$Y = 0.024 + 5.34X + 0.031X^2$$

Where y = is the volume (8 mL); X is pressure (psi) with a $R^2 = 0.99$. Kinetic parameter of gas production (GP) results (mL/g DM) were fitted using NLIN option of SAS (2002) according to France et al. (2000) model as:

$$A = b \times [1 - e^{-C(t-L)}]$$

Where A is the volume of GP at time t, b is the asymptotic GP (mL/g DM), k is the rate of GP (/h) and L (h) is the discrete lag time prior to GP.

Metabolizable energy (ME, MJ/kg DM) was estimated according to the method of Menke et al. (1979) as:

$$ME \text{ (MJ/Kg DM)} = 2.20 + 0.136 \text{ GP} + 0.057 \text{ CP}$$

Gas yield at 4 and 6 h (GY₄, GY₆) was calculated as the volume of gas (mL gas/g DM) produced after and before those time periods of incubation divided by the amount of DM (g) as:

$$\text{Gas yield (GY}_{24}\text{)} = \text{mL gas/g DMD}$$

Short chain fatty acids (SCFA) were calculated (Getachew et al., 2002) as:

$$\text{SCFA (mmol/200 mg DM)} = 0.0222 \text{ GP} - 0.00425$$

Where; GP is 24 hours net gas production (ml/200 mg DM).

Microbial Crude Protein production (MCP) was calculated (Blümmel et al., 1997) as:

$\text{MCP (mg = g DM)} = \text{mg DMD} - (\text{ml gas} \times 2.2\text{mg/ml})$ where the 2.2 mg/ml is a stoichiometric factor that expresses mg of C, H and O required for the SCFA gas associated with production of one ml of gas (Blümmel et al., 1997).

145 **Statistical analyses**

146 The experimental design for the in vitro was a completely randomized design. Values of gas
147 production within each extract doses were used as the experimental unit. Linear and quadratic
148 polynomial contrasts were used to examine responses to increasing addition of additives doses.
149 Multiple comparisons of means were performed using the Tukey's test. Significance was
150 declared at a level of $P < 0.05$.

151

152 **Results**

153 The results of in vitro gas production (GP), gas yield (GY) and carbon dioxide production (CO_2)
154 are shown in Table 1. The asymptotic GP (b, mL/g DM) quadratically increased ($P=0.027$) with
155 increasing doses of garlic extract. Addition of garlic extracts at 0.6 and 1.2 mL extract/g DM
156 resulted in higher asymptotic GP compared to control (without garlic extract addition) Fig. 1.
157 Dose effects on the rate of GP was quadratic ($P=0.037$). Garlic extract had no linear or quadratic
158 effects ($P>0.05$) on the initial delay before GP.

159 In vitro GY, there was no linear and quadratic effects ($P>0.05$) at GP_{12} hr incubation but there
160 were quadratic effects ($P=0.043$) and ($P=0.029$) for GP_{24} and GP_{48} incubation respectively.
161 However, the dose of 1.8 mL/g DM had the lowest in vitro GY of 140.82 mL/g DM at 24 hr and
162 145.04 mL/g DM at 48 hr incubation times when compared with the control and other doses. In
163 vitro CO_2 there were no linear and quadratic effects ($P>0.05$) for all the incubation times,
164 however the dose of 1.2 mL/g DM had the highest in vitro CO_2 production at 12 hr, 24 hr and 48
165 hr incubations whereas the dose of 1.8 mL/g DM had the lowest CO_2 production at 48hr
166 incubation time (Fig. 2).

167

168

Table 1. In vitro gas production after 72 h incubation as influenced by three different doses of aqueous extract of garlic (mL/g DM).

AEG	GP parameters			In vitro GY, mL/g DM			In vitro CO ₂ mL/g DM		
Dosage,	b,	c, /h	L, /h	GP ₁₂	GP ₂₄	GP ₄₈	CO ₂	CO ₂	CO ₂
mL/g DM	mL/g						12	24	48
	DM								
0	149.15	0.13	2.42	116.9	141.8	148.7	1.46	4.37	6.93
				1	6	3			
0.6	164.76	0.12	3.41	123.0	153.7	163.9	2.19	6.42	9.55
				7	1	2			
1.2	215.26	0.9	1.86	145.4	192.4	212.7	3.50	9.09	13.45
				3	1	5			
1.8	145.20	0.15	3.28	120.7	140.8	145.0	1.65	4.45	5.58
				5	2	4			
SEM	33.35	0.025	1.39	18.59	28.14	32.82	1.44	3.35	4.63
Linear	0.900	0.373	0.519	0.826	0.969	0.905	0.885	0.978	0.760
Quadratic	0.027	0.037	0.366	0.093	0.043	0.029	0.110	0.100	0.073

AEG, aqueous extract of garlic; b, asymptotic gas production; DM, dry matter; c, rate of gas production; L, initial delay before gas production begins; h, hours; GP, gas production and CO₂, carbon dioxide.

Table 2 shows the effects of aqueous extract of garlic (mL/g DM) on fecal fermentation parameters. There were no linear or quadratic effect ($P>0.05$) of the garlic extract on pH, DMD and GY₂₄. However, garlic extract showed a quadratic effect for MPC ($P=0.043$), and the highest

garlic extract concentration (1.8 mL/g DM) had the lowest MCP (539 mg/g DM) when compared to the control (541.29 mg/g DM), 0.6 mL/g DM (563.44 mg/g DM) and 1.2 mL/g (DM 635.81 mg/g DM) doses. Metabolizable energy (ME) quadratically increased ($P=0.042$) and had highest value of 8.23 MJ/kg DM in 1.2 mL dose than the control (6.85 MJ/kg DM), 0.6 mL (7.17 MJ/kg DM) and the 1.8 mL (6.82 MJ/kg DM) doses. The short chain fatty acids (SCFA) had no linear effect ($P>0.05$) but quadratic effect was observed ($P = 0.044$). Addition of 1.8 mL garlic extract resulted in the lowest SCFA compared with the control (3.12 mmol/g DM) and other AGE 0.6 mL (7.17 mmol/g DM) and 1.2 mL (8.23 mmol/g DM).

Table 2. Effects of aqueous extract of garlic (mL/g DM) on fecal fermentation parameters.

AEG Dosage, mL/g DM	pH	DMD, mg/g DM	MCP, mg/g DM	GY24 mL gas/g DMD	ME, MJ/kg DM	SCFA, mmol/g DM
0	6.11	67.57	541.29	165.80	6.85	3.12
0.6	6.38	62.36	563.44	168.07	7.17	3.39
1.2	5.74	64.12	635.81	181.64	8.23	4.25
1.8	6.36	62.36	539.33	165.28	6.82	3.10
SEM	0.28	3.05	52.64	10.90	0.76	0.62
Lineal	0.369	0.104	0.968	0.957	0.968	0.968
Quadratic	0.053	0.718	0.043	0.085	0.0426	0.044

AEG, aqueous extract of garlic; DM, dry matter; DMD, DM degradability; MCP, microbial crude protein production; GY24, gas yield at 24 h of incubation; ME, metabolizable energy; SCFA, short chain fatty acids.

Figure 1. In vitro gas kinetics (mg/g DM) at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 h incubation times with different concentrations of aqueous garlic extract (AEG).

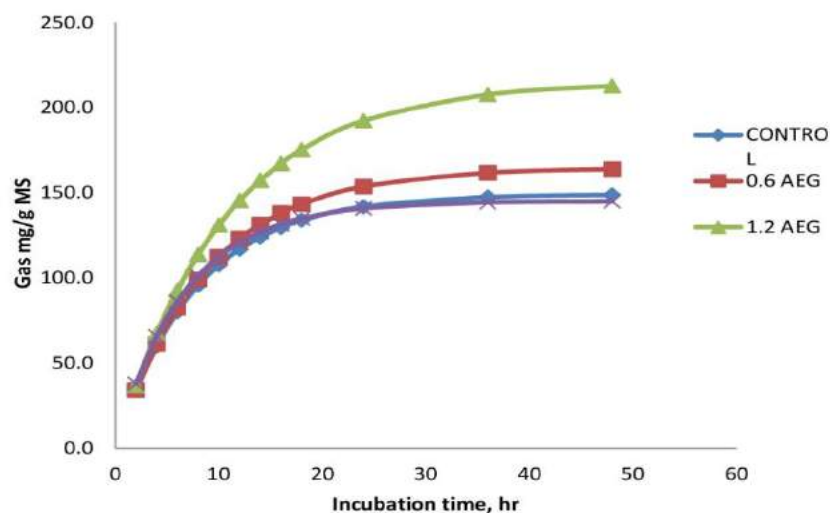
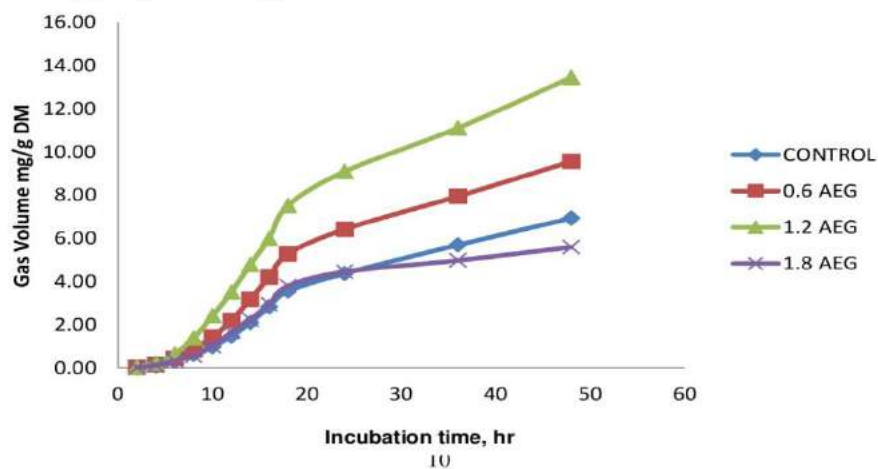


Figure 2. In vitro CO₂ kinetics (mg / g DM) at 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 18, 24, 36, 48, 60 and 72 h incubation times with different concentrations of aqueous garlic extract (AEG).



200 **Discussion**

201 The in vitro fermentation technique is a simple and sensitive screening method for investigating
202 nutritive values of diets and for evaluating the efficacy of feed additives (Salem et al., 2014a). It
203 is a powerful tool used to study forage utilization, feed digestibility, fermentability and microbial
204 protein production. It is also used to measure the in vitro gas rumen kinetics such as methane
205 (CH₄), Carbon dioxide (CO₂) and Hydrogen (H₂) (Elghandour et al., 2015; Elghandour et al.,
206 2016). Recently there has been an increased interest in using natural additive such as plants
207 extracts to modify rumen microbial fermentation and many studies have shown that natural plant
208 extracts have potentials to improve rumen fermentation and GP at lower or moderate
209 concentration (Jiménez-Peralta et al. 2011; Abarghuei et al. 2013; Salem et al., 2014a). In this
210 study, garlic extract is exploited by evaluating its effects on in vitro gas production and the
211 possibility of improving fermentation profiles of rabbits. Garlic (*Allium sativum*) is a natural
212 antimicrobial agent. It is used to prolong the shelf life of meat products because of its bactericidal
213 effects.

214 In this study, garlic extract had quadratic effects on the asymptotic GP ($P=0.027$) and rate of gas
215 production ($P=0.037$) but no effect on initial delay before gas production began. This result is in
216 contrast with Salem et al. (2014b) who reported that an increased GP was parallel with decreased
217 initial delay before GP begins in their study involving seven tree species extracts. Garlic extract
218 at 0.6 and 1.2 mL/g DM doses increased GP, but GP was lower than the control with addition of
219 1.8 mL/g DM dose. Higher gas values are good indication of better nutrient availability for
220 rumen microorganisms (Mahala & Fadel Elseed 2007). This finding is similar to the result of
221 Salem et al. (2014b) which reported that ruminal GP increased with *Salix babylonica* extract at
222 0.6 and 1.2 mL/g DM, but not with the dose 1.8 mL/g DM. The authors were of the opinion that
223 this improvement in GP could be attributed to the capacity of rumen microorganisms to degrade

low or moderate level of plant secondary metabolites in plant extracts thus utilizing them as energy source without negatively effecting rumen fermentation. The increase in GP also agrees with the results of previous studies of Jiménez-Peralta et al. (2011) and Salem et al. (2011). However, high doses of plant secondary metabolites in plant extracts are well known antimicrobial agents that inhibit bacteria, protozoa and fungi activities (Bodas et al. 2012) as observed at dose of 1.8 mL/g DM in this study.

In vitro GY, there was no linear and quadratic effects ($P>0.05$) at GP₁₂ hr incubation for all the doses but there were quadratic effects at GP₂₄ and GP₄₈ incubation times. However, the dose of 1.2 mL/g DM had the highest in vitro GY of 212.75 mL/g DM at GP₄₈ compared with the control and other doses. No linear or quadratic effects ($P>0.05$) was observed on in vitro CO₂ production, however, 1.2 mL/g DM dose garlic extract had the highest in vitro CO₂ production (13.45 mL/g DM) incubation whereas the dose of 1.8 mL/g DM had lower CO₂ production compared to their respective control at 48 hr incubation time. There are no published or documented reports on the effect supplementing rabbit's diets with garlic extract on in vitro GY and CO₂ productions; therefore, the results of this present study could not be compared from previous studies.

There were no significant effect ($P>0.05$) of the garlic extract supplementation on pH and GY₂₄. The pH values were within the range of 5.74 in the 1.2 mL/g DM dose to 6.11 in the control, showing no adverse effect of the garlic extracts on in-vitro system. This result was similar to the findings of Cardozo et al. (2005). The authors reported that the ethanol extract of garlic dose of 30 mg/l in rumen liquor from beef cattle fed on high concentrate diet stimulated the required changes in in vitro batch culture fermentation at pH 5.5 with the better value of total VFA. In our own study, the pH of 5.74 at the dose 1.2 mL/g DM had the highest SCFA (4.24 mmol/g DM) compared to the control and other doses. Positive correlations between pH and volatile fatty acids have been properly documented (Ramos et al., 2009) and this is in agreement with the findings of

248 this study. The addition of different doses of garlic extract did not significantly influence DMD
249 ($P>0.05$) in this study. Busquet et al. (2005a,b) reported that the addition of garlic oil and its
250 compounds did not have influence on true DM while Yang et al. (2007) observed that addition of
251 garlic and berry essential oil did not influence total digestibilities of DM. However, Sirohi et al.
252 (2009) reported 15% increase in DMD due to addition of Aloe-barbadanis extract.

253 In this study, the supplementation of garlic extract had a quadratic effect ($P<0.05$) on the
254 microbial crude protein (MCP), metabolise energy (ME) and short chain fatty acids (SCFA).
255 Salem et al. (2014a) reported that addition of *Leucaena leucocephala* and *Salix babylonica*
256 extracts at (0.6, 1.2, 1.8 mL extract/g DM increased gas volume, and MCP when compared to the
257 control. This finding was similar to the results of our study except that addition of garlic extract
258 at 1.8 mL extract/g DM decreased the gas volume, MCP, ME and SCFA. The observed decrease
259 could be as a result of antimicrobial activities of the garlic extract. This correlates with the
260 findings of Sreekanth et al., (2006), who reported that high levels of plant secondary metabolites
261 may reduce the feed intake, and impair the nutrient digestibility or even be toxic to the rabbits. In
262 contrast, Alexander et al. (2008) reported that extracts of *Moringa oleifera* and *Picrorhiza kurroa*
263 decreased DM degradability and GP₂₄ but had no effect on MCP.

264 There was significant increase ($P<0.05$) in SCFA at the dose of 1.2 mL/g DM compared to the
265 control and other doses. This result suggests that garlic extract at the dose of 1.2 mL/g DM
266 produced large amounts of asymptotic gas which leads to large production of SCFA and decrease
267 in the caecal pH. Kholif et al. (2015) indicated that increased in SCFA can be as result of direct
268 improvement on digestion of *Moringa oleifera* diets leading to more efficient fermentation. Also
269 at the increased dose of 1.8 mL/g DM garlic extract there was a decreased in SCFA and increased
270 in pH. This result was similar to the work of Wanapat et al. (2008 a, b), who observed that
271 increasing garlic powder in diets rumen resulted in a reduced SCFA.

272

273 **Conclusion**

274 The moderate dose of 1.2 mL/g DM supplemented garlic extracts had more positive influence on
275 the gas production and fermentation parameters than the lower doses of 0, 0.6 mL/g DM doses
276 and higher dose of 1.8 mL/g DM doses. In this study, supplementation of garlic extract at the
277 dose 1.2 mL/g DM resulted in in more available energy for increasing SCFA production and ME
278 density than other doses and could be an alternative means as feed additive to improve rabbit's
279 fermentation end products leading to reduced fermentation losses, improving ME, SCFA, and
280 increasing microbial crude protein production. The results of our findings showed that in vitro
281 gas production and some fermentation parameters such as the MCP, ME and SCFA demonstrate
282 that garlic extract is rich in plant secondary metabolites and could be a promising potential feed
283 additive in rabbit diets.

284

285 **References**

- 286 Abarghuei, M.J., Rouzbehan, Y., Salem, A.Z.M., Zamiri, M.J. 2013. Nutrient digestion, ruminal
287 fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. *Livestock Sci.*
288 157, 452–461.
- 289 Alexander, G., Singh, B., Sahoo, A., Bhat, T.K. 2008. In vitro screening of plant extracts to
290 enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Anim Feed*
291 *Sci Technol.* 145, 229–244.
- 292 Athanasiadou, S., Kyriazakis, I. 2004. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their
293 role in ruminant production systems. *Proc. Nutr. Soc.* 63, 631–639.
- 294 Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., Chouinard, P.Y. 2007.
295 Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations,

- 296 milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J.
297 Dairy Sci. 90, 886–897.
- 298 Blümmel, M., Steingss, H., Becker, K. 1997. The relationship between in vitro gas production, in
299 vitro microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction
300 of voluntary feed intake of roughages. Br. J. Nutr. 77, 911–921.
- 301 Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. 2012.
302 Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary
303 metabolites. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 78–93.
- 304 Broudiscou, L.P., Papon, Y., Broudiscou, A.F. 2002. Effects of dry plant extracts on feed
305 degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter.
306 Anim. Feed Sci. Technol. 101,183–189.
- 307 Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M.D., Kamel, C. 2005a. Effects of
308 cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous
309 culture. J. Dairy Sci. 88, 2508–2516.
- 310 Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M.D., Kamel, C. 2005b. Effect of garlic oil and
311 four of its compounds on rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 88, 4393–4404.
- 312 Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2006. Plant extracts affect in vitro rumen
313 microbial fermentation. J. Dairy Sci. 89, 761–771.
- 314 Cardozo, P.W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2005. Screening for the effects of natural
315 plant extracts at different pH on in vitro rumen microbial fermentation of a high-
316 concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci. 83, 2572-2579.
- 317 El-Adawy, M.M., Salem, A.Z.M., Borhami, B.E., Gado, H.M., Khalil, M.S., Abo-Zeid, A.
318 2008. In vitro caecal gas production and dry matter degradability of some browse leaves in
319 presence of enzymes from anaerobic bacterium in nzw rabbits. Nutr. Dig. Physiol. 643-648.

- 320 Elghandour, M.M.Y., Salem, A.Z.M., Martínez Castañeda, J.S., Camacho, L.M., Kholif, A.E.,
321 Vázquez Chagoyán, J.C. 2015. Direct-fed microbes: a tool for improving the utilization of
322 low quality roughages in ruminants. *J Integr. Agric.* 14 (3), 526–533.
- 323 Elghandour, M.M.Y., Kholif, A.E., López, S., German D. Mendoza, G.D., Odongo, N.E., Salem,
324 A.Z.M. 2016. In vitro gas, methane, and carbon dioxide productions of high fibrous diet
325 incubated with fecal inocula from Horses in response to the supplementation with different
326 live yeast additives. *J. Equine Vet. Sci.* 38, 64–71.
- 327 France, J., Dijkstra, J., Dhanoa, M.S., Lopez, S., Bannink, A. 2000. Estimating the extent of
328 degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed
329 in vitro: derivation of models and other mathematical considerations. *Br. J. Nutr.* 83, 143–
330 150.
- 331 Goering, M.K., Van Soest, P.J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures
332 and Some Applications). *Agriculture Handbook*, No 379. Agricultural Research Service,
333 USDA, Washington, USA.
- 334 Ishtiyak, A. M., Kumar, R, Sharma, R. K., Barman, K. 2010. Effect of addition of herbs on in
335 vitro digestibility of feed with rumen liquor of goat. *Indian J. Vet. Res.* 19: 13-18.
- 336 Jiménez-Peralta, F.S., Salem, A.Z.M., Mejia-Hernandez, P., Gonzalez-Ronquillo, M., Albarran-
337 Portillo, B., Rojo-Rubio, R., Tinoco-Jaramillo, J.L. 2011. Influence of individual and mixed
338 extracts of two tree species on in vitro gas production kinetics of high-concentrate diet fed
339 to growing lambs. *Livestock Sci.* 136, 192–200.
- 340 Kholif, A.E., Gouda, G.A., Morsy, T.A., Salem, A.Z.M., Lopez, S., Kholif, A.M. 2015. Moringa
341 oleifera leaf meal as a protein source in lactating goat's diets Feedintake, digestibility,
342 ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. *Small Rumin.*
343 *Res.* 129, 129–137.

- 344 Kongmun, P., Wanapat, M., Pakdee, P., Navanukraw, P. 2010. Effect of coconut oil and garlic
345 powder on in vitro fermentation using gas production technique. *Livestock Sci.* 127: 38–44.
- 346 Lawson, L. 1996. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. In: Koch,
347 H.P., Lawson, L.D. (Eds.), *Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium*
348 *sativum L. and Related Species*. Williams and Wilkins, Baltimore, MD, pp. 37–107.
- 349 Mahala, A.G., Fadel Elseed, A.M.A. 2007. Chemical composition and in vitro gas production
350 characteristics of six fodder trees, leaves and seeds. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3, 983–986.
- 351 Mauricio, R.M., Mould, F.L., Dhanoa, M.S., Owen, E., Channa, K.S., Theodorou, M.K. 1999.
352 Semi-automated in vitro gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. *Anim.*
353 *Feed Sci. Tech.* 79, 321–330.
- 354 Mbiriri, D. T., Cho, S., Mamvura, C. I., & Choi, N. J. 2016. Effects of a blend of garlic oil,
355 nitrate and fumarate on in vitro ruminal fermentation and microbial population. *J Anim*
356 *Physiol Anim Nutr.* doi:10.1111/jpn.12508.
- 357 McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J. 2003. Effects
358 of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. *Appl. Environ.*
359 *Microbiol.* 69, 5011–5014.
- 360 Menke, K.H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The
361 estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from
362 the gas production when they are incubated with rumen liquor in vitro. *J. Agric. Sci.*
363 (Camb.) 92, 217–222.
- 364 Official Journal of the European Union. 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European
365 Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal
366 Nutrition. Pages L268/29–L268/43 in OJEU of 10/18/2003.
- 367 Patra, A. K., Kamra, D. N., Agarwal, N. 2010. Effects of extracts of spices on rumen

- methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds in vitro. *J. Sci. Food Agric.* 90:511- 520.
- Patra, A. K., Saxena. J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 91:24-37.
- Patra, A.K., Kamra, D.N., Agarwal, N. 2006. Effects of plant extracts on in vitro methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. *Anim. Feed Sci. Technol.* 128, 276–291.
- Ramos, S., Tejido, M.L., Martínez, M.E., Ranilla, M.J., Carro, M.D. 2009. Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. *J. Anim. Sci.* 87, 2924-2934.
- Salem, A.Z.M. 2012. Oral administration of leaf extracts to rumen liquid donor lambs modifies in vitro gas production of other tree leaves. *Anim. Feed Sci. Technol.* 176, 94–101.
- Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Olivares, M., Elghandour, M.M.Y., Mellado, M., Arece, J. 2014a. Influence of *S. babylonica* extract on feed intake, growth performance and diet in vitro gas production profile in young lambs. *Trop. Anim. Health Pro.* 46:213-219.
- Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Elghandour, M. M. Y., Hernandez, S. R., Domínguez-Vara, I. A., Mellado, M. 2014b. Effect of increasing levels of seven tree species extracts added to a high concentrate diet on in vitro rumen gas output. *Anim. Sci. J.* 85, 853–860.
- Salem, A.Z.M., Olivares, M., Lopez, S., Gonzalez-Ronquillo, M., Camacho, L.M., Cerrillo, S.M.A. 2011. Effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 170, 27–34.
- Sirohi, S. K., Pandey, N., Goel, N., Singh, B., Mohini, M., Pandey, P., Chaudhry, P. P. 2009. Microbial activity and ruminal methanogenesis as affected by plant secondary metabolites

- 392 in different plant extracts. *Int. J. Environ. Sci. Eng.* 1:52-58.
- 393 Sreekanth P., Narayana K., Shridhar N.B., Bhat A. 2006. Toxicity studies of *Calycopteris*
394 *floribunda* Lam. in calf, rabbit and rat. *J. Ethnopharm.* 107, 229–233.
- 395 Theodorou, M. K., Williams, B. A., Dhanoa, M. S, McAllan, A. B., France, J. 1994. A simple gas
396 production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of
397 ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 48, 185-197.
- 398 Vallejo, L.H., Salem, A.Z.M., Kholif, A.E., Elghangour, M.M.M., Fajardo, R.C., Rivero, N.,
399 Bastida, A.Z., Mariezcurrena, M.D. 2016. Influence of cellulase or xylanase on the in vitro
400 rumen gas production and fermentation of corn stover. *Indian J. Anim. Sci.* 86 (1), 70-74.
- 401 Wanapat, M., Cherdthong, A., Pardee, P., Wanapat, S. 2008a. Manipulation of rumen ecology by
402 dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. *J. Anim. Sci.*
403 86, 3497–3503.
- 404 Wanapat, M., Khejorsart, P., Pakdee, P., Wanapat, S. 2008b. Effect of supplementation of garlic
405 powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. *J. Sci. Food Agric.* 88,
406 2231–2237.
- 407 Yang, W.Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A.V., He, M.L., McAllister, T.A. 2007.
408 Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and
409 extent of digestion in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 90, 5671–5681.
- 410

7.2. Artículo 2

De: Clara M^a Marín Alcalá <recyt@recyt.fecyt.es>

Enviado: jueves, 19 de enero de 2017 03:39 p. m.

Para: Dra Lolita MARIA DOLORES DOLORES MARIEZCURRENA BERASAIN

Asunto: [ITEA] Envío recibido

Dra Lolita MARIA DOLORES DOLORES MARIEZCURRENA BERASAIN:

Hemos recibido su manuscrito "EFECTO DE LA ADICIÓN DE EXTRACTO DE AJO EN LA DIETA DE CONEJOS SOBRE INDICADORES PRODUCTIVOS, CALIDAD FÍSICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA CARN" para ITEA-Información Técnica Económica Agraria. Gracias al sistema de gestión de revistas online que usamos podrá seguir su progreso a través del proceso editorial identificándose en el sitio web de la revista:

Si tiene cualquier pregunta no dude en contactar con nosotros. Gracias por tener en cuenta esta revista para difundir su trabajo.

Clara M^a Marín Alcalá

ITEA-Información Técnica Económica Agraria

Comité de Redacción de la Revista ITEA

<http://www.aida-itea.org/>



[aida-itea - Inicio](http://www.aida-itea.org/)

www.aida-itea.org

Proporcionar a los asociados toda la información y ayuda profesional que les sea útil.

1 Efecto de la adición de extracto de ajo en la dieta de conejos sobre indicadores
2 productivos, calidad física y microbiológica de la carne
3 Effect of garlic extract addition on the rabbit diet over the productive indicators,
4 physical and microbiological meat quality

5 H.D. Arzate¹, M.A. Mariezcurrena¹, D.L. Pinzón² y M.D. Mariezcurrena^{2*}

6 ¹Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Medicina Veterinaria y
7 Zootecnia. Campus Universitario El Cerrillo. Toluca, México. C. P. 50090, México.

8 ²Universidad Autónoma del Estado de México. Facultad de Ciencias Agrícolas. Campus
9 Universitario El Cerrillo. Toluca, México. C. P. 50090, México.

10 * Autor de correspondencia: nekkane16@hotmail.com

11

12 RESUMEN

13 El uso de antimicrobianos naturales, como el ajo, junto con sus propiedades nutraceuticas
14 ha favorecido el bienestar animal y como consecuencia la inocuidad y la calidad de la
15 carne. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar indicadores productivos, calidad
16 física y microbiológica de la carne de conejos, engordados con la adición de extracto
17 acuoso de ajo (EAA) en la dieta. Se realizó un diseño completamente aleatorio con tres
18 tratamientos de 28 conejos cada uno (PV 1,1±0,4 kg) Nueva Zelanda/Chinchilla, grupo
19 testigo, tratamiento 1 (0,9% de EEA) y tratamiento 2 (1,8% de EEA) asperjado en el
20 alimento cada tercer día. Se midió peso, ganancia de peso semanal y conversión
21 alimenticia, semanalmente durante 4 semanas. Se cuantificaron Unidades Formadoras de
22 Colonias de Mesófilos Aerobios, Coliformes Fecales, Psicrófilos, pH y color (L*, a* y b*) a
23 1, 3, 5, 7 y 9 días, bajo condiciones de refrigeración en *Longissimus dorsi*. Se realizó un
24 Análisis de Varianza Multivariado ($P \leq 0,05$) para los indicadores productivos, variables

25 físicas y microbiológicas, más una prueba de Tukey 5%. No existieron diferencias
26 significativas sobre los indicadores productivos y sí, para Psicrófilos y Mesófilos Aerobios
27 en vida de anaquel. No hubo presencia de Coliformes Fecales en ninguna de las muestras.
28 El efecto de la adición de extracto de ajo al 1,8% de EAA no afectó los indicadores
29 productivos, ni la calidad física de la carne, sin embargo, prolongó la calidad
30 microbiológica del producto por dos días.

31 *Palabras clave:* *Allium sativum*, vida de anaquel, análisis microbiológico, calidad de carne.

32

33 **ABSTRACT**

34 Natural antimicrobial use as garlic together with its nutraceuticals properties has improved
35 the animal welfare and as a consequence the meat safety and quality. Hence, the main
36 objective of this project was to evaluate productive indicators, physical and microbiological
37 from rabbit meat fed with aqueous garlic extract (AGE) added on diets. A complete
38 randomized experimental design was done to three 28 New Zealand/Chinchilla rabbits (PV
39 1.1 ± 0.4 kg) groups per treatment. Control group, treatment 1 (0.9% of AGE) and treatment
40 2 (1.8 % of AGE) sprinkled on food diet every third day. Weight, weekly weight gain and
41 food conversion were measured weekly for 4 weeks. Mesophilic Aerobic Bacteria, Fecal
42 Coliforms and [Psychrophile](#) counts, pH and colour (L^* , a^* and b^*) were made for 1, 3, 5, 7
43 and 9 days over cooling conditions in *Longissimus dorsi* samples. An analysis of variance
44 ($P \leq 0.05$) for productive indicators, physical and microbiological variables with a Tukey 5%
45 test were performed. There were no statistical differences ($P \geq 0.05$) for productive
46 indicators, but there were for [Psychrophile](#) and Mesophilic Aerobic Bacteria counts in shelf
47 life. There were no Fecal Coliforms reports in any of the samples. Then, aqueous garlic

48extract effect (to 1.8% of AGE) have no negative effect neither on productive indicators nor
49on physical meat quality. Nevertheless, it extended the product shelf life for two days.

50Key words: *Allium sativum*, shelf life, microbiological analysis, meat quality.

51

52INTRODUCCIÓN

53La industria cárnica emplea diversos métodos para retrasar los cambios alterativos y
54prolongar el periodo de aceptabilidad, mismos que se relacionan directamente con la
55presencia de microorganismos. En la actualidad, se busca la combinación de dos o más
56factores que interaccionen aditiva o sinérgicamente, para controlar la población microbiana
57y evitar la aplicación de un solo factor de conservación en forma severa. Lo que mejora la
58calidad sensorial y nutrimental del alimento y permite la producción de alimentos
59mínimamente procesados (Alzamora, 1997). El uso de antimicrobianos artificiales es
60común en la industria de la carne, sin embargo, actualmente son rechazados por parte de los
61consumidores. Por lo cual, ha surgido la necesidad de buscar otros antimicrobianos de
62origen natural (Hernández, 2008). El ajo (*Allium sativum*) es un antimicrobiano natural con
63una amplia gama de propiedades nutraceuticas, debido a su contenido de compuestos
64sulfurados secundarios, entre ellos la alicina. Igualmente, se ha demostrado los efectos
65benéficos del extracto de ajo sobre la salud de animales, como es el caso de los conejos y
66sobre la carne de éstos, en la cual, puede prolongarse la vida útil y por consiguiente, la
67seguridad del consumidor (Briens *et al.*, 2005; López, 2007; Goulas y Kontominas, 2007;
68Cardinali *et al.*, 2014). El deterioro de la carne de conejo en refrigeración, se debe a la
69actividad de enzimas endógenas junto con la actividad de microorganismos contaminantes
70del producto durante el proceso de faenado y despiece. Cuando el producto se distribuye en
71temperaturas de refrigeración, la carne tiene una vida de anaquel entre 6 y 8 días, tal como

72 otros reportes lo han mencionado (Badr, 2004; Rodríguez *et al.*, 2005; Nakyinsige *et al.*,
73 2014; Pereira y Malfeito 2015). Kim *et al.* (2010), marinaron carne de cerdo con jugo de
74 ajo y cebolla para determinar su efecto en la calidad durante el almacenamiento en
75 refrigeración. Sensorialmente, los jugos de ajo y cebolla le proporcionaron a la carne mayor
76 suavidad y mejores atributos de sabor. Aunque existen reportes de la utilización de extracto
77 de ajo en carnes de diferentes especies, no se ha evaluado la carga microbiana al adicionar
78 el extracto en la dieta en conejos. Derivado de lo cual, el objetivo de este estudio fue
79 evaluar el efecto de la adición de extracto acuoso de ajo (EAA) en la dieta de conejos, sobre
80 los indicadores productivos, así como en la calidad física y microbiológica de la carne en
81 vida de anaquel.

82

83 **MATERIALES Y MÉTODOS**

84 *Engorda*

85 El estudio se realizó en la Granja Matriz de Distribuidora de Conejos Nezahualcóyotl
86 (DISCONNEZA), ubicada en el Municipio de Nezahualcóyotl, Estado de México. Se sitúa
87 entre los paralelos 19°24'02" de latitud norte y 99°00'53" de longitud oeste, con una altitud
88 promedio de 2235 msnm.

89 El extracto acuoso se elaboró a partir de una dilución madre de 0,125 g/mL (Salem *et al.*,
90 2014). Para lo cual, los ajos sin cascara se licuaron por 5 min (Óster 6630-13) y dicho
91 extracto se filtró dos veces con gasas. El extracto acuoso de ajo (EAA) resultante se
92 almacenó en refrigeración (4 °C) hasta su uso. Se utilizaron 84 conejos destetados (PV
93 1,1±0,4 kg) machos y hembras, en un sistema modular dispuesto en un piso, equipado con
94 bebederos automáticos tipo tetina y tolvas de alimentación. Los cuales, se dividieron en tres
95 tratamientos; grupo testigo GT (sin EAA añadido), tratamiento 1 T1 (0,9 % EEA) y

96tratamiento 2 T2 (1,8 % EAA). Los extractos fueron asperjados sobre el alimento comercial
97(Conejo plus unión Tepexpan; proteína bruta: 16,5%; grasa cruda: 3%; fibra cruda: 15%;
98cenizas: 9% y humedad: 12%) cada tercer día. Para evaluar los indicadores productivos, los
99conejos se pesaron semanalmente (báscula digital Dibatec), en ayunas y se registró la
100ganancia de peso total, junto con ganancia de peso semanal y consumo de alimento, durante
1014 semanas. Agua y alimento fueron proporcionados *ad libitum*.

102Faenado

103Los conejos fueron restringidos de alimento 24 h para ser faenados. Se insensibilizaron por
104dislocación atlanto-occipital (NOM-033-SAG/ZOO-2014), se degollaron y desangraron,
105mediante un corte en la línea alba para retirar las vísceras abdominales y torácicas. Por
106último, se cortaron las extremidades y se disminuyó la temperatura de la canal hasta 4 °C.
107Las canales fueron identificadas y transportadas a temperatura de refrigeración al
108laboratorio de Calidad de los Productos Agropecuarios, Facultad de Ciencias Agrícolas de
109la Universidad Autónoma del Estado de México, para los análisis correspondientes.

110Análisis Físicos

111Se tomó la primera lectura de pH (Hanna Instruments, modelo HI 99163) y color (Minolta
112Chromameter CR 400) *in situ* de muestras del músculo *Longissimus dorsi* derecho de las
113canales a los 45 min *post mortem*. Los análisis subsecuentes se realizaron en las muestras
114tomadas del mismo músculo durante los días 1, 3, 5, 7 y 9 en vida de anaquel a 4 °C, por
115duplicado.

116Análisis Microbiológicos

117Se cuantificaron por duplicado las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de Coliformes
118Fecales, Mesófilos Aerobios y Psicrófilos. La AFNOR-NF-V0860-1996 se usó para la
119cuenta de Coliformes Fecales, ya que en México no hay Norma Oficial para estos

120microorganismos. Para Mesófilos Aerobios y Psicrófilos, se procedió por la NOM-092-
121SSA1-1994.

122Análisis Estadístico

123Para los indicadores productivos se realizó un Análisis de Varianza ($P \leq 0,05$) y al encontrar
124diferencias significativas, se aplicó una comparación por prueba de Tukey al 5%. Las
125variables de estudio fueron los tres tratamientos (GT, T1 y T2) y las variables respuesta
126fueron: peso semanal, ganancia de peso semanal y conversión alimenticia, durante un
127periodo de 4 semanas. A los resultados del estudio microbiológico y físico obtenidos, se les
128aplicó un Análisis de Varianza Multivariado ($P \leq 0,05$) para determinar el efecto de los
129tratamientos y vida de anaquel, donde la variable de estudio fueron los tratamientos (GT,
130T1 y T2). Las variables respuesta: UFC de Coliformes Fecales, Mesófilos Aerobios,
131Psicrófilos, pH, luminosidad, tonalidad de rojos y tonalidad de amarillos. Para los valores
132que presentaron diferencias significativas, se realizó la prueba de Tukey al 5%.

133RESULTADOS Y DISCUSIÓN

134Indicadores Productivos

135Los resultados de las variables productivas se presentan en las tablas 1, 2 y 3. En las cuales,
136se puede observar que no se presentaron diferencias significativas para ninguna de las
137variables. Estos datos difieren, de los presentados por Carreño y López (2014), Ortsergu *et*
138*al.* (2008) y Ademola *et al.* (2005), quienes suplementaron con extracto de ajo en la dieta de
139pollos y conejos. En relación a la ganancia de peso semanal, en la tabla 2 puede verse que
140el tratamiento 2 con 1,8% de EAA resultó en una mayor ganancia de peso semanal. Lo
141anterior, concuerda con Pourali *et al.* (2010), quienes mostraron que la alicina en el ajo
142promueve el rendimiento de la flora intestinal mejorando así la digestión y la utilización de
143la energía, lo que conduce a un mejor crecimiento del espécimen.

144En relación a la conversión alimenticia (Tabla 3), después de cuatro semanas el mismo
145tratamiento (1.8% EAA), mostró una conversión más alta.

146Análisis Físicos y Microbiológicos

147Después de realizar el análisis de varianza multivariado se encontró que existieron
148diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para Mesófilos Aerobios y Psicrófilos en vida de
149anaquel y para pH en la combinación tratamiento por vida de anaquel. Al encontrar
150diferencias significativas para estas variables, se aplicó una prueba de Tukey 5% que se
151presenta en la tabla 4.

152En Mesófilos Aerobios, existieron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) para vida de anaquel,
153únicamente en el GT, en el cual se formaron tres grupos estadísticamente diferentes (Tabla
1544). El rango con el que se inició la vida de anaquel en los tres tratamientos para esta
155población microbiana fue de 1,50 a 2,23 \log_{10} UFC/cm². Aunque en la Norma Mexicana no
156se indica un valor de referencia para esta población microbiana en carnes crudas de otras
157especies, se sugiere considerar que la Unión Europea de acuerdo a la Directiva
1582001/471/CE reporta valores aceptables menores a 3,50 \log_{10} UFC/cm² y no existen
159reportes para la carne de conejo. Así, en el último día de la vida de anaquel del presente
160experimento (día 9) todos los tratamientos se encontraron dentro de los límites permisibles
161aunque no hubo diferencias significativas ($P \geq 0,05$) entre ellos. Los tratamientos
162conducen con los límites establecidos en el primer día en vida de anaquel. La presencia
163de Mesófilos Aerobios se usa como indicador general de higiene y de la población de
164microorganismos presentes, da una idea de la calidad del manejo y manipulación de la
165carne, incluye bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30 °C. (López *et al.*,
1662013; Ponce *et al.*, 2013). Otros estudios en carne de conejo sin ningún antimicrobiano,
167reportan valores más altos de Mesófilos Aerobios (5,87 \log_{10} UFC/cm²) que exceden el

168límite permisible (Rodríguez-Calleja *et al.*, 2004). En el presente estudio, no hubo
169diferencia significativa ($P \geq 0,05$) al final de la vida de anaquel en ésta variable, lo cual
170sugiere que el manejo e higiene fue el indicado en los tres tratamientos.

171Para el caso de los Psicrófilos hubo diferencia significativa ($P \leq 0,05$) en vida de anaquel y
172no entre tratamientos. El rango que se presentó al inicio de la vida de anaquel fue de 1,57 a
1732,01 \log_{10} UFC/cm². En la vida de anaquel la cinética de crecimiento mostró que el T2
174comienza con una carga mayor (2,01 \log_{10} UFC/cm²) en comparación del GT y T1. Sin
175embargo, en el día 9 de vida de anaquel del T2 el número de UFC (3,02 \log_{10} UFC/cm²) en
176comparación con el GT y T1 (3,19 y 3,40 \log_{10} UFC/cm², respectivamente) fue menor. Por
177lo que el crecimiento de Psicrófilos fue disminuido en el T2. Estos microorganismos son
178importantes para predecir la estabilidad del producto bajo condiciones de refrigeración y se
179sugiere el T2 mostró la mayor estabilidad, aunque no existen normativas para sus límites
180permisibles en carne de conejo. En Mesófilos Aerobios y Psicrófilos, existe problemática
181para establecer límites máximos permisibles, ya que la carne es un producto que
182mayoritariamente, antes de ser consumido pasa por un proceso de cocción, donde se
183alcanzan altas temperaturas que eliminan dichos microorganismos. Marguenda *et al.*,
184(2008) mencionaron que el ayuno de 24 h mejora la calidad microbiológica ya que al
185vaciar el tracto digestivo, disminuye la presencia de microorganismos no deseables en la
186canal. No existió crecimiento de Coliformes Fecales en ninguno de los tratamientos. La
187carga inicial es proporcional a la población final que se alcance en una carne durante su
188vida útil. Las bacterias se reproducen exponencialmente, por lo que una población inicial
189alta, resultará en menor tiempo para alcanzar los niveles en que la carne se descomponga
190(Zwietering *et al.*, 1990 y 1991). El T2 se asemeja a los resultados de Park y Chin (2010),
191quienes evaluaron la capacidad antimicrobiana de extractos de ajo obtenidos por solventes

192adicionados a medallones de carne molida de cerdo. Los resultados mostraron que todos
193los extractos inhibían el crecimiento de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli*
1940157:H7. De igual forma, se investigó el potencial antimicrobiano, de algunos compuestos
195azufrados presentes en el ajo contra el crecimiento microbiano de carne de res. Se inhibió a
196cinco cepas inoculadas intencionalmente (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*,
197*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Campylobacter jejuni*) (Yin y Cheng,
1982003). Así el crecimiento microbiano se comportó semejante a los resultados de Gheisari y
199Ranjbar (2012), con ajo fresco y en polvo y que también reportaron un retardo en
200crecimiento microbiano en la conservación de carne de camello. Otros estudios han
201probado la efectividad de extractos de ajo en la conservación de canales de aves frescas
202almacenadas en refrigeración y han obtenido una reducción significativa en la
203contaminación microbiana, inhibido el crecimiento de microorganismos Mesófilos y
204reducido el crecimiento de Coliformes Totales y Fecales (De Moura *et al.*, 2005), mismos
205que concuerdan con la inhibición de Coliformes Fecales en este estudio. Sin embargo,
206Pacheco *et al.* (2011) difiere de los presentes resultados ya que reportan que soluciones
207acuosas de ajo sobre rebanadas de bagre dorado (*Brachyplatystoma rousseauxii*)
208almacenadas a 4 °C, mostraron una mejora en la calidad microbiológica, al inhibir a
209bacterias psicrótroficas, bacterias lácticas, entre otras en al menos 15 días. Así la solución
210acuosa del T2 sobre la carne de conejo, se sugiere como un presunto paso prometedor para
211el presente tratamiento.

212Para la variable de pH, tanto en tratamientos como en vida de anaquel hubo diferencias
213significativas ($P \leq 0,05$). El rango fue de 6,26 a 7,01 entre tratamientos al inicio de la vida de
214anaquel. Al finalizar ésta (día 9), se presentó un rango de 6,54 a 7,08 entre los tratamientos.
215El pH del músculo de animales sanos es de alrededor de 7,04 y 7,30, alcanzando valores de

2165,50 a 5,70 a las 24 h *post mortem* (Albarracín y Sánchez, 2013; Braña *et al.*, 2011; Garrido
217*et al.*, 2005). Los presentes resultados correspondientes al día 9 se encontraron ligeramente
218elevados a los reportados por Dainty y Mackey (1992) (pH 6,0), sin embargo los autores
219reportan solamente con un día de vida de anaquel. Por lo que nuevamente se sugiere que la
220ligera alcalinización presentada ofrezca una presunta mejora en la vida de anaquel. El valor
221de pH se ve afectado por el contenido en glucógeno del músculo y el cual, a su vez por el
222estrés previo al faenado. Como se muestra en la tabla 4 los valores de pH son elevados
223durante la vida de anaquel, lo que concuerda con Dainty y Mackey, los cuales sugieren que
224concentraciones bajas de glucógeno elevan el pH, siendo más susceptible la carne a la
225alteración microbiológica por una utilización temprana de aminoácidos. Sin embargo, el
226glucógeno no fue evaluado para determinar si es la causa del no descenso del pH, siendo un
227área de oportunidad. Como en otros alimentos proteicos mantenidos en refrigeración y en
228aerobiosis, el pH de la carne de conejo aumenta a medida que el almacenamiento
229progresaba debido a la actividad bacteriana (Nychas *et al.*, 1998). Lo cual, concuerda con
230los resultados de la presente investigación, donde los valores del pH presentaron un
231incremento conforme a la evolución de la vida de anaquel, en los tres tratamientos
232analizados.

233Para las variables luminosidad, intensidad de rojos e intensidad de amarillos, no existieron
234diferencias significativas ($P > 0,05$) entre tratamientos ni en vida de anaquel (Tabla 4). Los
235valores obtenidos oscilaron para L^* en el primer día de vida de anaquel, desde 59,76 hasta
23661,38 y para el día 9, desde 56,94-58,68. Así, en el día 9, los valores se encontraron
237ligeramente por debajo de los reportados por Listel *et al.* (2004), quienes también evaluaron
238carne de conejo y mencionaron un valor para la luminosidad de 59,48. En cuanto a otros
239reportes, los presentes valores se localizaron ligeramente por encima de los reportados por

240Ramírez (2004), con 54,9. En el caso de a*, el rango de los presentes reportes se encontró
241de 1,21 y 3,75, mismos que se asemejan a los indicados por los autores ya mencionados
242(2,49 y 2,84, respectivamente). En el caso de b*, la carne de la presente investigación
243presentó ligeros tonos más amarillos, ya que los valores de esta variable oscilaron entre
2442,78 y 5,17, que concuerdan con Listel *et al.*, 2004 (4,32). Finalmente, el color no se vio
245afectado por los tratamientos, lo que sugiere que la calidad de la carne pueda no causar
246cambios en la decisión de compra del consumidor.

247

248**CONCLUSIONES**

249La adición del extracto acuoso de ajo tuvo un efecto principalmente en vida de anaquel ya
250que se aumentó la calidad microbiológica de la carne, a disminuir la cuenta de Psicrófilos, y
251como consecuencia se obtuvo una mejora en la vida de Anaquel por dos días (Total de 9
252días), sin afectar los indicadores productivos, ni la calidad física del producto (pH y color).

253

254**AGRADECIMIENTOS**

255Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT) por el apoyo
256brindado a lo largo del programa de maestría. Al financiamiento otorgado a través del
257Fondo desarrollo de capacidades en ciencia de la carne y caracterización del valor nutritivo
258de las carnes comercializadas en México y Uruguay Clave UAEMEX 4117/2016 y a la
259Universidad Autónoma del Estado de México.

260

261**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 262 Ademola SG, Farinu GO, Adelowo OO, Fadade MO, Babatunde GM (2005). Growth
263 performance antimicrobial activity of garlic and ginger mixture fed to broiler. Proceedings
264 of the 2005 Nigerian Society for Animal Production. 71-74.
- 265 AFNOR (1996). Microbiology of food and animal feedings stuffs. Enumeration of
266 thermotolerant coliforms by colony-count technique at 44 °C, routine method. Association
267 Française de Normalisation, Paris, France.
- 268 Albarracín HW, Sánchez BI (2013). Caracterización del sacrificio de cordero de pelo a
269 partir de cruces con razas criollas colombianas. Revista MVZ Córdoba. 18(1): 3370-3378.
- 270 Alzamora SM (1997). Preservación. Alimentos conservados por factores combinados. J.M.
271 Aguilera. Temas en tecnologías de Alimentos 1. México. CYTED/IPN. 45-48.
- 272 Badr HM (2004). Use of irradiation to control food borne pathogens and extend the
273 refrigerated market life of rabbit meat. Meat Science. 67: 541-548.
- 274 Braña VD, Ramírez RE, Rubio LMS, Sánchez EA, Torrescano UG, Arenas MML, Partida
275 PJA, Ponce AE, Ríos RFG (2011). Manual de Análisis de Calidad en Muestras de Carne.
276 SAGARPA/INIFAP/CONACYT/COFUPRO/AMEXITEC. México. 89 pp.
- 277 Briens C, Arturo-Schaan M, Grenet L, Robert F (2005). Effect of plant extracts on
278 antioxidant status of fattening rabbits. Proc. 11^{èmes} Journées de la Recherche Cunicole,
279 2005 November, Paris, France. 217-220.
- 280 Cardinali R, Cullere M, Dal Bosco A, Mugnai C, Ruggeri S, Mattioli S, Castellini C,
281 Trabalza M, Dalle A (2014). Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in
282 growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat
283 chemical composition. Livestock Science. 1-7.
- 284 Carreño WH, López LC (2014). Extracto de ajo como alternativa a los promotores de
285 crecimiento en pollos de engorde. Conexión Agropecuaria JDC. (2): 35-43.

- 286Dainty RH, Mackey BM (1992). The relationship between the phenotypic properties of
287bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. Journal Applied Bacteriology,
288Symposium Supplement 21: 103-114.
- 289De Moura K, Santo R, De Miranda L, Vanetti M (2005). Aqueous garlic extract and
290microbiological quality of refrigerated poultry meat. Journal of Food Processing and
291Preservation. 29: 98-108.
- 292Garrido MD, Bañon S, Álvarez D (2005). Medida del pH. En V. Cañeque y C. Sañudo
293(Eds.). Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal
294vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes (pp. 206-215). España: INIA.
- 295Gheisari HR, Ranjbar VR (2012). Antioxidative and antimicrobial effects of garlic in
296ground camel meat. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 36: 13-20.
- 297Goulas AE, Kontominas MG (2007). Comined effect of light salting modified atmosphere
298packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*):
299Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry. 100: 287-296.
- 300Hernández P (2008). Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. 9° Word
301Rabbit Congress.
- 302Kim YJ, Jin SK, Park WY, Kim BW, Joo ST, Yang HS (2010). The effect of garlic or onion
303marinade on the lipid oxidation and meat quality of pork during cold storage. Journal of
304Food Quality. 33:171-185.
- 305Listel G, Villarroel M, Olleta L, Sañudo C, García S, Chacón G (2004). Efecto del transporte
306sobre la calidad de la carne y el bienestar del animal en conejos comerciales durante la
307estación cálida en Aragón. XXIX Symposium de cunicultura. ASESCU. 62-68.
- 308López T (2007). El ajo propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. Ámbito
309farmacéutico Fitoterapia. 26: 78-81.

- 310López H, Braña VD, Hernández HI (2013). Estimación de la Vida de Anaquel de la Carne.
311SAGARPA/CONACYT/COFUPRO/INIFAP/UAM/SNITT. Querétaro. 77 pp.
- 312Margüenda I, Martín NN, Rebollar PG, Robinson MV, Fernández LS, Machota SV,
313Nakyinsige K, Fatimah AB, Aghwan ZA, Zulkifli I, Goh YM, Sazili AQ (2014). Bleeding
314efficiency and meat oxidative stability and microbiological quality of New Zealand White
315rabbits subjected to halal slaughter without stunning and gas stun-killing. Asian-
316Australasian Journal of Animal Sciences. 27(3): 406.
- 317NOM-092-SSA1-1994. (1994). Norma Oficial Mexicana, Bienes y Servicios. Método para
318la cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D.F., Diario Oficial de la Federación.
- 319NOM-033-SAG/ZOO-2014. (2014). Norma Oficial Mexicana, Métodos para dar muerte a
320los animales domésticos y silvestres. México, D.F., Diario Oficial de la Federación.
- 321Nychas JE, Drosinos EH, Board RG (1998). Chemical changes in stored meat. En Davies
322A., y R. Board. The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie Academic and Professional,
323London. 288-326.
- 324Ortserga DD, Andyar AC, Anthony TI (2008). Growth performance of growing rabbits fed
325graded levels of garlic (*Allium sativum*). Proceedings of the 33rd Annual Conference of the
326Nigerian Society for Animal Protein. 189-191.
- 327Park SY, Chin KB (2010). Evaluation of preheating and extraction solvents in antioxidant
328and antimicrobial activities of garlic, and their application in fresh pork patties.
329International Journal of Food Science and Technology. 45: 365-373.
- 330Pacheco JV, Tomé E, Guerra M, Raybaudi R (2011). Efecto antioxidante y antimicrobiano
331de sales de ácidos orgánicos y extractos naturales en filete de bagre refrigerados. Revista
332Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2: 16-40.

- 333Pereira M, Malfeito M (2015). A simple method to evaluate the shelf life of refrigerated
334rabbit meat. Food Control. 49: 70-74.
- 335Ponce AE, Braña VD, López HL, Delgado SE (2013). Aspectos microbiológicos como
336indicadores de frescura de la carne en Braña Varela, D. Evaluación de la frescura de la
337carne. INIFAP, 10-23.
- 338Pourali M, Mirghelenj SA, Kermanshashi D (2010). Effect of garlic powder on productive
339performance and immune response of broiler chickens challenged with Newcastle disease
340virus. Global Veterinaria, 4: 616-621.
- 341Ramírez J (2004). Características bioquímicas del músculo, calidad de la carne y de la grasa
342de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. Tesis Doctoral. Centro de
343tecnología de la carne. Universidad de Barcelona, Facultad de Veterinaria.
- 344Rodríguez-Calleja JM, Santos JA, Otero A, García-López ML (2004). Microbiological
345quality of rabbit meat. Journal of Food Protection. 67(5), 966-971.
- 346Rodríguez JM, García ML, Santos JA, Otero A (2005). Development of the aerobic
347spoilage flora of chilled rabbit meat. Meat Science. 70: 389-394.
- 348Salem AZ, Ryena AC, Elghandour MM, Camacho LM, Kholif AE, Salazar MC,
349Mariezcurrena MA (2014). Influence of *Salix babylonica* extract in combination or not with
350increasing levels of minerals mixture on *in vitro* rumen gas production kinetics of a total
351mixed ration. Italian Journal of Animal Science.13 (4): 3110.
- 352Unión Europea (2004) Directiva 2001/471/CE para evaluar la situación del control del
353proceso en cuanto a la higiene y la contaminación fecal. Diario Oficial de las Comunidades
354Europeas.
- 355Yin MC, Cheng WS (2003). Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived
356organosulfur compounds in ground beef. Meat Science. 63: 23-28.X, Li Zhou N, Li JS

357(2000). Growth hormone stimulates remnant small bowel epithelial cell proliferation. World

358Journal of Gastroenterology. 6(6): 909-913.

359Zwietering MH, Jongenburger I, Rombouts FM, Van't K (1990). Modeling of the bacterial

360growth curve. Applied and Environmental Microbiology. 56: 1875-1881.

361Zwietering MH, De Koos JT, Hasenack BE, Wit JC, Van't K (1991). Modeling of bacterial

362growth as a function of temperature. Applied and Environmental Microbiology. 57: 1094-

363110.

364Tabla 1: ANOVA de la variable peso de los conejos por semana (kg/PV).

365 *Table 1: ANOVA of the variable weight of rabbits per week (kg/PV).*

	Tratamiento			Valor
	GT	1	2	<i>P</i>
Semana 1	1,14±0,02	1,09±0,03	1,03±0,04	0,2617
Semana 2	1,37±0,03	1,3±0,04	1,29±0,05	0,5028
Semana 3	1,59±0,03	1,50±0,04	1,53±0,05	0,1182
Semana 4	1,84±0,04	1,75±0,05	1,81±0,06	0,1721

366GT: Grupo testigo (sin EAA añadido), tratamiento 1 (0,9 % EEA) y tratamiento 2 (1,8 %

367EAA).

368Tabla 2: ANOVA de la variable ganancia de peso semanal (k/PV)

369 *Table 2: ANOVA of the variable weekly weight gain (kg/PV)*

	Tratamiento			Valor
	GT	1	2	<i>P</i>
Semana 1	0,26±0,01	0,25±0,01	0,25±0,01	0,4845
Semana 2	0,23±0,01	0,24±0,01	0,26±0,02	0,3897
Semana 3	0,22±0,01	0,16±0,01	0,23±0,01	0,0050
Semana 4	0,24±0,01	0,25±0,01	0,28±0,01	0,8360
Total	0,96±0,02	0,91±0,02	1,24±0,05	0,1790

370GT: Grupo testigo (sin EAA añadido), tratamiento 1 (0,9 % EEA) y tratamiento 2 (1,8 %

371EAA).

372Tabla 3: ANOVA de la variable conversión alimenticia por semana.

373

Table 3: ANOVA of the variable feed conversion per week.

	Tratamiento			Valor <i>P</i>
	GT	1	2	
Semana 1	2,5±0,16	2,76±0,21	4,42±0,49	0,3474
Semana 2	3,15±0,56	3,14±0,73	5,21±1,52	0,9950
Semana 3	2,89±0,73	4,62±0,95	5,28±0,47	0,1541
Semana 4	2,88±0,34	2,96±0,44	3,95±0,72	0,8903
Total	2,84±0,1	3,1±0,13	4,29±0,47	0,1308

374GT: Grupo testigo (sin EAA añadido), tratamiento 1 (0,9 % EEA) y tratamiento 2 (1,8 %
375EEA).

376Tabla 4. Prueba de Tukey (5%) sobre el perfil físico y microbiológico, durante la vida de
377anaquel de carne de conejo.

378Table 4. Test of Tukey (5%) on the physical and microbiological profile, during the shelf life
379of rabbit meat.

	Tratamiento			P	EEM
	GT	1	2		
MA (log ₁₀ UFC/ cm ²)					
Día 1	1,50 ^x	2,15	2,23	0,092	0,208
Día 3	2,08 ^{xy}	2,35	2,18	0,675	0,210
Día 5	2,58 ^{xy}	2,65	2,54	0,960	0,258
Día 7	2,46 ^{xy}	2,51	2,68	0,642	0,167
Día 9	3,01 ^y	2,99	2,40	0,460	0,371
P	0,009	0,097	0,781		
PSI (log ₁₀ UFC/ cm ²)					
Día 1	1,57 ^x	1,65 ^x	2,01 ^x	0,348	0,207
Día 3	2,43 ^{xy}	2,30 ^y	2,77 ^{xy}	0,255	0,182
Día 5	2,90 ^y	2,85 ^z	2,99 ^y	0,805	0,156
Día 7	2,01 ^{xy}	2,21 ^y	3,15 ^y	0,064	0,286
Día 9	3,19 ^y	3,40 ^z	3,02 ^y	0,474	0,206
P	0,015	0.000	0,016		
pH					
Día 1	6,64 ^{ab}	6,26 ^{aw}	7,01 ^{bx}	0,0058	0,101
Día 3	6,66	6,49 ^x	6,97 ^x	0,0995	0,101
Día 5	6,86 ^{ab}	6,55 ^{ay}	7,01 ^{bx}	0,0278	0,090
Día 7	6,38 ^a	7,11 ^{bz}	6,21 ^{ay}	0,0108	0,147
Día 9	6,64 ^a	7,08 ^{bz}	6,54 ^{az}	0,0137	0,937
P	0,469	0,000	0,000		
L*					

Efecto de la adición de ajo en dieta de conejos sobre la calidad sanitaria de la carne

Día 1	61,17	59,76	61,38	0,762	1,645
Día 3	58,41	59,76	57,42	0,683	1,842
Día 5	58,11	56,79	56,51	0,680	1,326
Día 7	58,13	57,17	57,55	0,901	1,478
Día 9	58,68	56,94	58,37	0,588	1,218
<i>P</i>	0,789	0,065	0,255		
<i>a</i> *					
Día 1	2,04	1,99	1,25	0,167	0,280
Día 3	1,21	1,63	2,17	0,205	0,330
Día 5	3,75	1,57	2,38	0,422	1,106
Día 7	3,16	1,58	1,805	0,345	0,756
Día 9	2,80	1,73	1,916	0,589	0,752
<i>P</i>	0,582	0,783	0,360		
<i>b</i> *					
Día 1	4,27	3,69	4,17	0,436	0,320
Día 3	3,48	4,46	2,78	0,376	0,784
Día 5	5,10	3,14	4,53	0,349	0,901
Día 7	5,17	3,76	4,14	0,443	0,754
Día 9	5,30	3,71	4,02	0,289	0,683
<i>P</i>	0,599	0,263	0,550		

380GT: Grupo testigo (sin EAA añadido), tratamiento 1 (0,9 % EEA) y tratamiento 2 (1,8 %
381EEA). $P < 0,05$ indica diferencias significativas, MA: Mesófilos Aerobios, PSI: Psicrófilos,
382L*: luminosidad, a*: intensidad rojos, b*: intensidad amarillos, EEM: Error Estándar de la
383Media. a,b,c Medias con diferente literal en un renglón indican diferencias estadísticamente
384significativas ($P < 0,05$). x,y,z Medias con diferente letra en la misma columna son
385estadísticamente diferentes ($P < 0,05$).

VIII. CONCLUSIONES

Experimento 1. Estudio *In vitro*.

Se utilizaron tres diferentes concentraciones de extracto acuoso de ajo en el estudio de producción de gas *in vitro*. La producción total de gas (mL/g DM) se ve afectada con la concentración de 1,8 mL, teniendo un comportamiento negativo incluso por debajo del testigo. Las concentraciones de 0,6 y 1,2 mL de extracto de ajo producen una cantidad mayor de CO₂ que el control, sin embargo, la concentración más alta tiene una menor producción de Dióxido de Carbono, pudiendo estar alterando los microorganismos responsables de fermentación cecal.

Una de las principales características del ajo es su capacidad antimicrobiana, por lo que en este estudio se concluye que dosis altas intervienen mermando los microorganismos responsables de la degradación y fermentación de la materia seca. Debido a lo anterior solo las dosis de 0,6 y 1,2 mL se utilizaron en el estudio *in vivo*.

Experimento 2. Estudio microbiológico.

A pesar del cuidado de las condiciones de faenado de los conejos y bajo los criterios que establece la NOM-033-SAG/ZOO-2014. La utilización de extracto acuoso de ajo no impide que exista contaminación en la carne de conejo, sin embargo, después de existir un crecimiento exponencial en el día 5 de Mesófilos Aerobios y Psicrófilos, inicia su fase estacionaria donde el T2 después del día 7 inicia la muerte de microorganismos, aumentando así la vida de anaquel, asegurando la sanidad de la carne sin afectar el color de la misma.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarghuei, M. J., Rouzbehan, Y., Salem, A. Z. M., Zamiri, M. J. 2013. Nutrient digestion, ruminal fermentation and performance of dairy cows fed pomegranate peel extract. *Livestock Sci.* 157, 452–461.
- Aberle, E. D. 2002. *Principles of Meat Science* 4th Edition. Kendall Hunt Publishing Company. Chapter 9. Storage and Preservation of Meat. 181.
- AFNOR. 1996. Microbiology of food and animal feedings stuffs. Enumeration of thermotolerant coliforms by colony-count technique at 44°C, routine method. Association Française de Normalisation, Paris, France.
- Ahmed M. H., Salem A. Z. M., Olafadehan O. A., Kholif A. E., Rivero N., Mariezcurrena M. A., Camacho L. M., Elghandour M. M. Y., Alonso M. U., and Almaz A. H. A. 2016. Effect of pre- and post-partum dietary crude protein level on the performance of ewes and their lambs. *Small Ruminant Research.* 136: 221–226.
- Alexander, G., Singh, B., Sahoo, A., Bhat, T. K. 2008. *In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets. *Anim Feed Sci Technol.* 145, 229–244.
- Alzamora, S. M. 1997. Preservación. Alimentos conservados por factores combinados. J.M. Aguilera. *Temas en tecnologías de Alimentos* 1. México. CYTED.IPN. 45-48.
- Amano H., Kazamori D., and Kodera K. 2015. Metabolism, excretion and pharmacokinetics of S-Allyl-L-cysteine in rats and dogs; drug discovery laboratory. *Drug Metabolism and Disposition*, 43: 749-755.
- An, B. K., Kim, J. Y., Oh, S. T., Kang, C. W., Cho, S., and Kim, S. K. 2015. Effects of onion extracts on growth performance, carcass characteristics and blood profiles of white mini broilers. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 28: 247.

- Arinder, P. and Borch, E. 1999. Validation of mathematical models for predicting growth of *Pseudomonas spp.* Predictive microbiology applied to chilled food preservation. Refrigeration Science and Technology Proceedings. 185-193.
- Athanasiadou, S., Kyriazakis, I. 2004. Plant secondary metabolites: antiparasitic effects and their role in ruminant production systems. Proc. Nutr. Soc. 63, 631–639.
- Badr H. M. 2004. Use of irradiation to control food borne pathogens and extend the refrigerated market life of rabbit meat. Meat Science. 67: 541-548.
- Battaglini, M. B., Castellini, C. and Lattaiolo, P. 1994. Rabbit carcass and meat quality: Effect of strain, rabbitry and age. Italian Journal Food Science. 2: 157-166.
- Beales, N. 2004. Adaptation of microorganisms to cold temperature, weak acid preservatives, low pH, and osmotic stress: a review. Comprehensive Reviews in Food Safety. 3: 1-20.
- Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J., Chouinard, P.Y. 2007. Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial populations, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J. Dairy Sci. 90, 886–897.
- Berge, P. C, Sañudo, A., Sánchez, M., Alfonso, C., Stamataris, G., Thorkelsson, E., Piasentier and Fisher, A. V. 2003. Comparison of muscle composition and meat quality.
- Beuchat, L. R. and Golden, D. A. 1989. Antimicrobials occurring naturally in foods. Food Technology. 43: 134-142.
- Beuchat, L. R. 2001. Control of foodborne pathogens and spoilage microorganisms by naturally occurring antimicrobials. Microbial Food

Contamination. Wilson CL, S Droby. CRC Press. London, UK. Chap. 11: 149-169.

- Blanchard J., 2000. Los antimicrobianos naturales refuerzan la seguridad en los alimentos. Disponible en:<http://www.directoalpaladar.com/2006/10/28-los-antimicrobianos-naturales-refuerzan-la-seguridad-en-los-alimentos> [Consulta 28/Oct./2016].
- Blas de, C. 1989, alimentación del conejo, editorial Mundi-Prensa. España. 280 p.
- Blasco A. and Piles M. 1990. Muscular pH of the rabbit. Annales Zootechnie, 39, 133-136.
- Blümmel, M., Steingss, H., Becker, K. 1997. The relationship between *in vitro* gas production, *in vitro* microbial biomass yield and 15N incorporation and its implications for the prediction of voluntary feed intake of roughages. Br. J. Nutr. 77, 911–921.
- Bodas, R., Prieto, N., García-González, R., Andrés, S., Giráldez, F.J., López, S. 2012. Manipulation of rumen fermentation and methane production with plant secondary metabolites. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 78–93.
- Bourne, M. C. 1982. Food texture and viscosity. Academic Press. New York.
- Bradley E. M., Williams J. B., Schilling M. W., Coggins P. C., Crist C. A., Yoder S. W., and Campano S. G. 2011. Effects of sodium lactate and acetic acid derivatives on the quality and sensory characteristics of hot-boned pork sausage patties. Meat Science. 88: 145-150.
- Braña D., Ramírez E., Salud Rubio M., Sánchez A., Torrescano G., Arenas M., Partida A., Ponce E. y Ríos F. 2011. Manual de Análisis de la Calidad en Muestras de Carne. SAGARPA, Folleto técnico No. 11.
- Broudiscou, L. P., Papon, Y., Broudiscou, A. F. 2002. Effects of dry plant extracts on feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. Anim. Feed Sci. Technol. 101,183–189.

- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D., Kamel, C. 2005a. Effects of cinnamaldehyde and garlic oil on rumen microbial fermentation in a dual flow continuous culture. J. Dairy Sci. 88, 2508–2516.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Carro, M. D., Kamel, C. 2005b. Effect of garlic oil and four of its compounds on rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 88, 4393–4404.
- Busquet, M., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2006. Plant extracts affect *in vitro* rumen microbial fermentation. J. Dairy Sci. 89, 761–771.
- Calabrò S., Nizza A., Pinna W., Cutrignelli M. I. and Piccolo V. 1999. Estimation of digestibility of compound diets for rabbits using the *in vitro* gas production technique. World Rabbit Science. 74 (4): 197-201.
- Cardinali R., Cullere M., Dal Bosco A., Mugnai C., Ruggeri S., Mattioli S., Castellini C., Trabalza M. and Dalle A. 2014. Oregano, rosemary and vitamin E dietary supplementation in growing rabbits: Effect on growth performance, carcass traits, bone development and meat chemical composition. Livestock Science. 1-7.
- Cardozo, P. W., Calsamiglia, S., Ferret, A., Kamel, C. 2005. Screening for the effects of natural plant extracts at different pH on *in vitro* rumen microbial fermentation of a high-concentrate diet for beef cattle. J. Anim. Sci. 83, 2572-2579.
- Cequeño, V. y Sañudo, C. 2005 .Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. INIA Madrid (España).
- Combes, S., Lepetit, J., Darche, B., and Lebas, F. 2003. Effect of cooking temperature and cooking time on Warner-Bratzler tenderness measurement and collagen content in rabbit meat. Meat Science, 66: 91 - 96.
- CNC. Centro Nacional de Cunicultura. Irapuato, Guanajuato, México, 2005. Procesamiento de la carne y pieles cunícolas. 20-37.
- Cone J. W., Van Gelder A. H., Visscher G. J. W. and Oudshoorn L. 1996.

Influence of rumen fluid and substrate concentration on fermentation kinetics measured with fully automated time related gas production apparatus. *Animal Feed Science Technology*. 61: 113-128.

- CNSPC. Comité Nacional Sistema Producto Cunícola. 2012, “antecedentes”. México, D.F. disponible en: <http://www.cunicultura.org.mx/antecedentes.php>. [Consulta 16/Marzo./2016].
- Córdoba, M. 2010. Extracción y purificación de alicina a partir de ajo (*Allium sativum* L.): Implicaciones analíticas. Tesis maestría. Instituto Politécnico Nacional.
- Dalle, A. 2002. Perception of rabbit meat and major factors influencing the rabbit carcass and meat quality. *Livestock Production Science*. 75: 11-32.
- Dainty, R. H., and B. M. Mackey. 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology, Symposium Supplement* 21: 103-114.
- Davidson, P. M., and Parish, M. E. 1989. Methods for testing the efficacy of food antimicrobials. *Food technology (USA)*.
- Davidson, P. M. and Branen, A. L. 1993. Antimicrobials in foods. Marcel Dekker, Inc New Cork. Citado en: López-Malo, A. 2000. La preservación multiobjetivo de Alimentos.
- Davies, A. R. 1995. Advances in modified-atmosphere packaging. In: Gould, G.W. *New Methods of Food Preservation*. Blackie Academic and Professional, London. 304–320.
- De Moura, K., Santos, R., De Miranda, L. and Vanetti, M. 2005. Aqueous garlic extract and microbiological quality of refrigerated poultry meat. *Journal of Food Processing and Preservation*. 29: 98-108.

- Deresse, D. 2010. Antibacterial effect of garlic (*Allium sativum*) on *Staphylococcus aureus*: An *in vitro* Study. Asian Journal of Medical Sciences 2(2): 62-65.
- Eilert, S. J. 2005. New packaging technologies for the 21st century, Meat Science.71: 122–127.
- El-Adawy, M. M., Salem, A. Z. M., Borhami, B.E., Gado, H. M., Khalil, M. S., Abo-Zeid, A. 2008. *In vitro* caecal gas production and dry matter degradability of some browse leaves in presence of enzymes from anaerobic bacterium in nzw rabbits. Nutr. Dig. Physiol. 643-648.
- Elghandour, M. M. Y., Salem, A. Z. M., Martínez Castañeda, J. S., Camacho, L. M., Kholif, A. E., Vázquez Chagoyán, J. C. 2015. Direct-fed microbes: a tool for improving the utilization of low quality roughages in ruminants. J Integr. Agric. 14 (3), 526–533.
- Elghandour, M. M. Y., Kholif, A. E., López, S., German D. Mendoza, G. D., Odongo, N. E., Salem, A. Z. M. 2016. *In vitro* gas, methane, and carbon dioxide productions of high fibrous diet incubated with fecal inocula from Horses in response to the supplementation with different live yeast additives. J. Equine Vet. Sci. 38, 64–71.
- Feldhusen F., D. Neumann-Fuhrmann and S. Wenzel. 1987. Die Leitfähigkeit als parameter der fleischbeschaffenheit. Fleischwirtsch 67: 455-460.
- Forrest J. C., Aberle E. D., Hedrick H. B., Judge M. D. y Merkel R. A. 1979. Fundamentos de ciencia de la carne. Editorial Acribia, Zaragoza España.
- France J., Dijkstra J., Dhanoa M.S., López S. and Bannink A. 2003. Estimating the extent of degradation of ruminant feeds from a description of their gas production profiles observed *in vitro*: derivation of models and other mathematical considerations. British. Journal Nutrition. 83: 143-150.
- Friend T. H., Dellmeier G. R. and Gbur, E. E. 1987. Effects of changing housing on physiology of calves. Journal Dairy Science. 70: 1595-1600.

- García S., Walter P., Tawfik I. K. and Yamamoto S. M. 2005. Características da qualidade da carne de ovinos de diferentes genótipos e idades ao abate. Revista Brasileira de Zootecnia. 34(3): 1070-1078.
- Garrido M. D., Bañón S. y Álvarez D. 2005. Medida del pH en Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. INIA.
- Gebreyohanne, G. and Gebreyohanne, M. 2013. Medicinal values of garlic: A review. International Journal of Medicine and Medical Sciences. 5(9): 401-408.
- Gheisari, H. R. and Ranjbar, V. R. 2012. Antioxidative and antimicrobial effects of garlic in ground camel meat. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 36: 13-20.
- Giese, J. 1995. Measuring physical properties of foods. Food Technology. 49: 54-63.
- Gill, C. O. 1998. Microbial contamination of meat during slaughter and butchering of cattle, sheep and pigs. The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie Academic and Professional, London. 118-157.
- Goering, M. K., Van Soest, P. J. 1970. Forage Fiber Analysis (Apparatus, Reagents, Procedures and Some Applications). Agriculture Handbook, No 379. Agricultural Research Service, USDA, Washington, USA.
- González P., y Caravac, F. P. 2007. Producción de conejos de aptitud cárnica. Universidad de Sevilla, editor. Sistemas ganaderos en el siglo XXI. 30: 443-61.
- Goulas A. E. and Kontominas M. G. 2007. Comined effect of light salting modified atmosphere packaging and oregano essential oil on the shelf-life of sea bream (*Sparus aurata*): Biochemical and sensory attributes. Food Chemistry. 100: 287-296.
- Hernández, P. 2008. Enhancement of nutritional quality and safety in rabbit meat. 9° Word Rabbit Congress.

- Honikel K. O. 1997. Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Journal of Food Chemistry*. 59(4): 573-582.
- Hulot F. and Ouhayoun J. 1999. Muscular pH and related traits in rabbits: A review. *World Rabbit Science*. 7: 15-36.
- Hui Y. H., Guerrero L. I. y Rosmini R. M. 2006. *Ciencia y Tecnología de la Carne*. Ed. Limusa.
- Ishtiyak, A. M., Kumar, R, Sharma, R. K., Barman, K. 2010. Effect of addition of herbs on *in vitro* digestibility of feed with rumen liquor of goat. *Indian J. Vet. Res.* 19: 13-18.
- Jandete H., Martínez M. y Gálvez C. 2004. *Zootecnia Cunícola*. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Jiménez-Peralta, F. S., Salem, A. Z. M., Mejia-Hernandez, P., Gonzalez-Ronquillo, M., Albarran-Portillo, B., Rojo-Rubio, R., Tinoco-Jaramillo, J. L. 2011. Influence of individual and mixed extracts of two tree species on *in vitro* gas production kinetics of high-concentrate diet fed to growing lambs. *Livestock Sci.* 136, 192–200.
- Karakaya M., Saricoban C. and Yilalmaz M. T. 2005. The effect of mutton, goat, beef and rabbit-meat species and state of rigor on some technological parameters. *Journal of Muscle Foods*. 17: 56–64.
- Kholif, A. E., Gouda, G. A., Morsy, T. A., Salem, A. Z. M., Lopez, S., Kholif, A. M. 2015. Moringa oleifera leaf meal as a protein source in lactating goat's diets Feedintake, digestibility, ruminal fermentation, milk yield and composition, and its fatty acids profile. *Small Rumin. Res.* 129, 129–137.
- Kim Y. J., Jin S. K., Park W. Y., Kim B. W., Joo S. T. y Yang H. S. 2010. The effect of garlic or onion marinade on the lipid oxidation and meat quality of pork during cold storage. *Journal of Food Quality*. 33: 171-185.
- Kongmun P., Wanapat M., Pakdee P. and Navanukraw C. 2010. Effect of coconut oil and garlic powder on *in vitro* fermentation using gas production

technique. *Livestock Science*. 127: 38-44.

- Lawrie, R. A. 1981. *Ciencia de la Carne*. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 355.
- Lawson L. 1996. The composition and chemistry of garlic cloves and processed garlic. In: Koch, H.P., Lawson, L.D., *Garlic. The Science and Therapeutic Application of Allium sativum L. and Related Species*. Williams and Wilkins, Baltimore. MD. 37-107.
- Lebert I., Robles-Olvera V. and Lebert A. 2000. Application of polynomial models to predict growth of mixed cultures of *Pseudomonas spp.* and *Listeria* in meat. *International Journal of Food Microbiology*. 61: 27-39.
- Ledezma E. y Apitz-Castro R. 2006. Ajoene el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. *Revista Iberoamericana de Micología*. 23: 75-80.
- Listel G., Villarroel M., Olleta L., Sañudo C., García S. y Chacón G. 2004. Efecto del transporte sobre la calidad de la carne y el bienestar del animal en conejos comerciales durante la estación cálida en Aragón. XXIX Symposium de cunicultura. ASESCU. 62-68.
- López, T. 2007. El ajo propiedades farmacológicas e indicaciones terapéuticas. *Ámbito Farmacéutico Fitoterapia*. 26: 78-81.
- López H., Braña V. D., Hernández H. I. 2013. Estimación de la Vida de Anaquel de la Carne. SAGARPA/CONACYT/COFUPRO/INIFAP/UAM/SNITT. Querétaro. 77 pp.
- Mahala, A. G., Fadel Elseed, A. M. A. 2007. Chemical composition and *in vitro* gas production characteristics of six fodder trees, leaves and seeds. *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3, 983–986.
- Margüenda I., Martín N. N., Rebollar P. G., Robinson M. V., Fernández L. S., Machota S. V. y Carabaño R. 2008. Efecto del tiempo de ayuno sobre el

rendimiento y la calidad microbiológica de la canal del conejo. In XXXIII Symposium de cunicultura. Asociación Española de Cunicultura. 24-27.

- Marth, E. 1998. Extended shelf life refrigerated foods: Microbiological quality and safety. Food Technology. 52(2): 57-62.
- Martin, J. M. 2007. Beef quality and Tainting. En: Nollet, L. M. L. Handbook of Meat, Poultry and Seafood Quality. Australia: Blackwell Publishing. 327-331.
- Martínez A. 2004. Cunicultura. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
- Mauricio R. M., Mould F. L., Dhanoa M. S., Owen E., Channa K. S. and Theodorou M.K. 1999. Semi-automated *in vitro* gas production technique for ruminant feedstuff evaluation. Animal Feed Science Technology. 79: 321-330.
- Mbiriri D. T., Cho S., Mamvura C. I. and Choi N. J. 2016. Effects of a blend of garlic oil, nitrate and fumarate on *in vitro* ruminal fermentation and microbial population. Journal of animal physiology and animal nutrition.
- McIntosh, F.M., Williams, P., Losa, R., Wallace, R.J., Beever, D.A., Newbold, C.J. 2003. Effects of essential oils on ruminal microorganisms and their protein metabolism. Appl. Environ. Microbiol. 69, 5011–5014.
- McMeekin T. A., Olley J. N., Ross T. and Ratkowsky D. A. 1993. Predictive microbiology: Theory and application. Research Studies Press Ltd., John Wiley & Sons Inc., Taunton, U.K. 340
- Mendoza, B. 2007. Situación de la cunicultura en México. Revista Lagomorpha-numero 117. <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2869717> [citado: 18 de octubre del 2011].

- Mendoza, B. 2008. Conservación de carne de conejo empacada al vacío. Tesis licenciatura. Instituto de ciencias básicas e ingeniería área académica de química. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Menke, K. H., Raab, L., Salewski, A., Steingass, H., Fritz, D., Schneider, W. 1979. The estimation of the digestibility and metabolizable energy content of ruminant feedstuffs from the gas production when they are incubated with rumen liquor *in vitro*. J. Agric. Sci. (Camb.) 92, 217–222.
- Mirelman D. and Serge A. 1999. Antimicrobial properties of allicin from garlic. Microbes and Infection, Elsevier, Paris. 2:125-129.
- Moore C. M., and Sheldon B. W. 2003. Use of time- temperature integrators and predictive modeling to evaluate microbiological quality loss in poultry products. Journal of Food Protection. 66 (2): 280-286.
- Noguera R. R., Saliba E. O. y Mauricio R. M .2004.Comparación de modelos matemáticos para estimar los parámetros de degradación obtenidos a través de la técnica de producción de gas. Livestock Research for Rural Development. 16: Art. 86.
- NOM-009-ZOO-1995. NORMA Oficial Mexicana, Proceso sanitario de la carne.
- NOM-092-SSA1-1994. 1994. Norma Oficial Mexicana, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
- NOM-033-SAG/ZOO-2014. 2014. NORMA Oficial Mexicana, Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres.
- Nychas G. 1995. Natural Antimicrobials from plants. En: New Methods of food preservation. G.W. Gould. Blackie Academia y Professional. Glasgow. 1-21.
- Nychas G., Drosinos and Board R. 1998. Chemical changes in stored meat. En Davies A., y R. Board. The Microbiology of Meat and Poultry. Blackie Academic and Professional, London. 288-326.

- Official Journal of the European Union. 2003. Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003 on Additives for Use in Animal Nutrition. Pages L268/29-L268/43 in OJEU of 10/18/2003.
- OIEDRUSBC. Oficina Estatal de Información para el Desarrollo Rural Sustentable de Baja California. 2009. Estudio sobre cunicultura en el Estado de Baja California. Baja California, México. 21.
- Oliver M. A., Guerrero L., Díaz I., Gispert M., Pla M. and Blasco A. 1997. The effect of fat-enriched diets on the perirenal fat quality and sensory characteristics of meat from rabbits. Meat Science. 4: 95-103.
- Pacheco J. V., Tomé E., Guerra M. y Raybaudi R. 2011. Efecto antioxidante y antimicrobiano de sales de ácidos orgánicos y extractos naturales en filete de bagre refrigerados. Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2: 16-40.
- Park S. Y., Yoo S. S., Shim J. H. and Chin K. B. 2008. Physicochemical properties and antioxidant and antimicrobial effects of garlic and onion powder in fresh pork belly and lion during refrigerated storage. Journal of Food Science. 73: 577-584.
- Park S. Y., and Chin K. B. 2010. Evaluation of preheating and extraction solvents in antioxidant and antimicrobial activities of garlic, and their application in fresh pork patties. International Journal of Food Science and Technology. 45: 365-373.
- Parry R. T., 1995. Envasado de los alimentos en atmosfera modificada. Editorial A. Madrid Vicente. Madrid España.
- Patra, A. K., Kamra, D. N., Agarwal, N. 2010. Effects of extracts of spices on rumen methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feeds *in vitro*. J. Sci. Food Agric. 90:511- 520.

- Patra, A. K., Saxena. J. 2011. Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. J. Sci. Food Agric. 91:24-37.
- Patra, A.K., Kamra, D.N., Agarwal, N. 2006. Effects of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo. Anim. Feed Sci. Technol. 128, 276–291.
- Pell A.N. and Schofield P. 1993. Computerised monitoring of gas production to measure forage digestion *in vitro*. Journal Dairy Science. 76: 1063-1073.
- Pla M, and Cervera C. 1997. Carcass and meat quality of rabbits given diets having a high level of vegetable or animal fat. Journal Animal Science. 65: 299-303.
- Pla M., Guerrero L., Guardia D., Oliver M. A. and Blasco A. 1998. Carcass characteristics and meat quality of rabbit line selected for different objectives: I. between lines comparison. Livestock Production Sciences, 54, 115-123.
- Ponce A. E., Braña V. D., López H. L., Delgado S. E. 2013. Aspectos microbiológicos como indicadores de frescura de la carne en Braña Varela, D. Evaluación de la frescura de la carne. INIFAP, 10-23.
- Rahman M. S. 2007. Allicin and other functional active components in garlic: Health benefits and bioavailability. International journal of food properties. 10: 245-268.
- Ramírez J. 2004. Características bioquímicas del músculo, calidad de la carne y de la grasa de conejos seleccionados por velocidad de crecimiento. Tesis Doctoral. Centro de tecnología de la carne. Universidad de Barcelona, Facultad de Veterinaria.
- Ramos, S., Tejido, M. L., Martínez, M. E., Ranilla, M. J., Carro, M. D. 2009. Microbial protein synthesis, ruminal digestion, microbial populations, and nitrogen balance in sheep fed diets varying in forage-to-concentrate ratio and type of forage. J. Anim. Sci. 87, 2924-2934.
- Rasul H. A., Sadiq M., Muhammad F., Saeed F., Batool R., and Nisar A. 2012. Aqueous garlic extract and its phytochemical profile; special reference

to antioxidant status. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 63(4): 431-439.

- Rodríguez J. M., García M. L., Santos J. A. and Otero A. 2005. Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. Meat Science. 70: 389-394.
- Rodríguez J. M. 2006. Calidad microbiológica de la carne de conejo y estimación de la eficacia de algunos tratamientos tecnológicos para la conservación. Tesis doctoral. Departamento de higiene y tecnología de los alimentos. Universidad de León.
- Rosenthal A. J. Food texture measurement and perception. Maryland, USA: Aspen Publishers; 1999.
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2012. El Estado de México primer lugar en producción y consumo de conejo. Boletín 78. México. 2.
- Salem, A.Z.M. 2012. Oral administration of leaf extracts to rumen liquid donor lambs modifies *in vitro* gas production of other tree leaves. Anim. Feed Sci. Technol. 176, 94–101.
- Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Olivares, M., Elghandour, M. M. Y., Mellado, M., Arece, J. 2014a. Influence of *S. babylonica* extract on feed intake, growth performance and diet *in vitro* gas production profile in young lambs. Trop. Anim. Health Pro. 46:213-219.
- Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Elghandour, M. M. Y., Hernandez, S. R., Domínguez-Vara, I. A., Mellado, M. 2014b. Effect of increasing levels of seven tree species extracts added to a high concentrate diet on *in vitro* rumen gas output. Anim. Sci. J. 85, 853–860.
- Salem, A. Z. M., Olivares, M., Lopez, S., Gonzalez-Ronquillo, M., Camacho, L. M., Cerrillo, S. M. A. 2011. Effect of natural extracts of *Salix babylonica* and *Leucaena leucocephala* on nutrient digestibility and growth performance of lambs. Anim. Feed Sci. Technol. 170, 27–34.

- Samelis J., Kakouri A. and Rementzis J. 2000. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. Food Microbiology. 17(3): 329-340.
- SAS Institute, 2002. SAS User's Guide: Statistics. Ver 9.0. SAS Institute, Cary, N.C., USA.
- Schmitten F., Shepers H., Jüngst W. and Festerling A. 1984. Fleischqualitätbeimschwein–Untersuchungenzuderenerfassung. Fleischwirtsch. 64: 238-242.
- Schofield P. and Pell A. N. 1995. Validity of using accumulated gas pressure readings to measure forage digestion *in vitro*: a comparison involving three forages. Journal of Dairy Science. 78: 2230-2238.
- Sharapin N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos (No. 78). Convenio Andrés Bello.
- Sierra M. V. 2012. Evaluación de los parámetros zootécnicos obtenidos en conejos de raza nueva Zelanda y California suplementados con microorganismos eficientes.
- Sirohi, S. K., Pandey, N., Goel, N., Singh, B., Mohini, M., Pandey, P., Chaudhry, P. P. 2009. Microbial activity and ruminal methanogenesis as affected by plant secondary metabolites in different plant extracts. Int. J. Environ. Sci. Eng. 1:52-58.
- Smid E. J. and Gorris L. G. 1999. Natural antimicrobials for food preservation. Food Science and Technology New York Marcel Dekker. 285-308.
- Smith G. C., J. D. Tatum and J. B. Morgan. 1999. Reducing the incidence of dark-cutting beef. Beef Cattle Handbook. 4350: 1-3.

- Sreekanth P., Narayana K., Shridhar N. B., Bhat A. 2006. Toxicity studies of *Calycopteris floribunda* Lam. in calf, rabbit and rat. J. Ethnopharm. 107, 229–233.
- Swatland H. J. 1991. Estructura y desarrollo de los animales de abasto. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Teixeira A., Batista S., Delfa R., and Cadavez V. 2005. Lamb meat quality of two breeds with protected origin designation. Influence of breed, sex and live weight. Meat Science. 71: 530–536.
- Theodorou M. K., Williams B. A., Dhanoa M. S., McAllan A. B. and France J. 1994. A simple gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. Animal Feed Science and Technology. 48: 185-197.
- Tirado J., Paredes D. G., and Velázquez J. A. 2005. Crecimiento microbiano en productos cárnicos refrigerados. Ciencia y Tecnología Alimentaria, Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. México. 5(1): 66-76.
- Unión Europea. 2004. Directiva 2001/471/CE para evaluar la situación del control del proceso en cuanto a la higiene y la contaminación fecal. Diario Oficial de las Comunidades Europeas.
- Vallejo, L. H., Salem, A. Z. M., Kholif, A. E., Elghangour, M. M. M., Fajardo, R. C., Rivero, N., Bastida, A. Z., Mariezcurrena, M.D. 2016. Influence of cellulase or xylanase on the *in vitro* rumen gas production and fermentation of corn stover. Indian J. Anim. Sci. 86 (1), 70-74.
- Wanapat, M., Cherdthong, A., Pardee, P., Wanapat, S. 2008a. Manipulation of rumen ecology by dietary lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf.) powder supplementation. J. Anim. Sci. 86, 3497–3503.
- Wanapat, M., Khejorsart, P., Pakdee, P., Wanapat, S. 2008b. Effect of supplementation of garlic powder on rumen ecology and digestibility of nutrients in ruminants. J. Sci. Food Agric. 88, 2231–2237.

- Warris P. D. 2003. Ciencia de la carne. Ed. Acribia, S. A. Zaragoza (España).
- Wirth F. 1985. Embutido escaldado: Fijación de agua, fijación de grasa y formación de la estructura. Fleischwirtsch. 2: 4.
- Wulf M. D. and J. W. Wise. 1999. Measuring muscle color on beef carcasses using the L* a*b* color space. Journal of Animal Science 77: 2418-2427.
- Yang, W. Z., Benchaar, C., Ametaj, B. N., Chaves, A. V., He, M. L., McAllister, T. A. 2007. Effects of garlic and juniper berry essential oils on ruminal fermentation and on the site and extent of digestion in lactating cows. J. Dairy Sci. 90, 5671–5681.
- Yin M. C. and Cheng W. S. 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Science. 63: 23-28.
- Zimerman M. 2008. pH de la carne y factores que lo afectan. Aspectos estratégicos para obtener carne de ovino de calidad en el cono sur americano, 1.
- Zwietering M. H., Jongenburger I., Rombouts F. M. and Van't Riet K. 1990. Modeling of the bacterial growth curve. Applied and Environmental Microbiology. 56, 1875-1881.
- Zwietering M. H., De Koos J. T., Hasenack B. E., de Wit, J. C. and Van't Riet K. 1991. Modeling of bacterial growth as a function of temperature. Applied and Environmental Microbiology. 57: 1094-1101.